П. Ф. ЗАБРОДСКИЙ, В. Г. МАНДЫЧ

ИММУНОТОКСИКОЛОГИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

Монография

Саратов
2007

УДК 612.014.46:616–092:612.017.1]–008.64–008.9–085.246.9.(024)

ББК 52.84+52.54+52.8 я 43
З–127

Забродский П.Ф., Мандыч В.Г.
Иммунотоксикология ксенобиотиков: Монография. – СВИБХБ, 2007.- 420 с.
ISBN 978–5 –91272-254-7

Монография посвящена рассмотрению токсических и иммунотоксических свойств ксенобиотиков, в частности токсичных химикатов (боевых отравляющих веществ), ядовитых технических жидкостей, фосфорорганических соединений, атропиноподобных препаратов, нитрилов, диоксинов и металлов. В монографии представлены данные литературы и собственных исследований о механизмах действия токсикантов и фармакологических препаратов на систему иммунитета, а также способах коррекции постинтоксикационных нарушений иммунного гомеостаза.

Монография адресована токсикологам, биологам, экологам, химикам, фармакологам, иммунологам, физиологам и терапевтам.

Табл. 110. Ил. 40. Библиогр. 935 названий.

Рецензенты:
доктор медицинских наук, профессор Бородавко В.К.;
доктор медицинских наук, профессор Сидорин Г.И.

ISBN 978–5 –91272-254-7

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ – адрено-кортикотропный гормон
АЗКЦ – антителозависимая клеточная цитотоксичность
АОК – антителообразующие клетки
АОС – антиоксидантная система
БОВ – боевые отравляющие вещества
БОФ – белки острой фазы
ГГНС – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система
ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа
ДДВФ – диметилдихлорвинилфосфат
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДХЭ – 1,2-дихлорэтан
ЕКК – естественные клетки-киллеры
ЕЦ – естественная цитотоксичность
ИАН – индекс активности нейтрофилов
ИКК – иммунокомпетентные клетки
ИЛ-1 (2 и т.д.) – интерлейкин-1 (2 и т.д.)
К-клетки – клетки-киллеры (лимфоциты, определяющие АЗКЦ)
КОЕс – колониеобразующая единица селезенки
КонА – конканавалин А
КС – кортикостерон (кортикостероиды)
$ЛД_{50}$ – средняя смертельная доза, вызывающая смертельный исход у 50% отравленных
ММС – моноцитарно-макрофагальная система
НА – норадреналин
НАК – нитрил акриловой кислоты
НРО – неспецифическая резистентность организма
ПОЛ – перекисное окисление липидов
П-СКК – примитивная стволовая кроветворная клетка
ПЯЛ – полиморфноядерные лейкоциты
РНК – рибонуклеиновая кислота
СКК – стволовая кроветворная клетка
СМ – соединения мышьяка
СМО – система цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ
ТХ – токсичные химикаты
ТХВ – токсичные химические вещества
ТХМ – тетрахлорметан
ТХЭ – трихлорэтилен
Th1 (2,3) – Т-лимфоциты- хелперы типа 1(2,3)

ФГА – фитогемагглютинин
ФМАН – фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов
ФОВ – фосфорорганические вещества
ФОИ – фосфорорганические инсектициды
ФОС – фосфорорганические соединения
ЦНС – центральная нервная система
ЭГ – этиленгликоль
ЭБ – эритроциты барана
Ig – иммуноглобулин
LD_{50} – средняя смертельная доза, вызывающая смертельный исход у 50% отравленных
Vi – антиген (Vi-Ag) – тимуснезависимый брюшнотифозной Vi-антиген
VX – антихолинэстеразный токсичный химикат типа Vx (российский VX)

ПРЕДИСЛОВИЕ

В результате бурного развития иммунологии в течение последней четверти прошлого столетия возникла и получила свое развитие определенная система взглядов на механизмы взаимодействия многоклеточного организма с живыми телами и веществами, несущими на себе признаки генетической чужеродности, основанная на представлении об иммунной системе как о многокомпонентной системе, ответственной за поддержание генетической однородности организма. Однако в настоящее время понятие «иммунитет» претерпело принципиальные изменения. Под иммунитетом понимают особое биологическое свойство многоклеточных организмов, предназначенное для защиты от инфекций и других внешних патогенов, способных при попадании в организм вступать в прочные связи с клетками и/или межклеточным веществом. При этом происходит распознание множества разнообразных молекул (антигенов) с последующей деструкцией поврежденных тканей и их элиминацией из организма [Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. В настоящее время идет процесс проникновения иммунологических идей и методов исследования в смежные области науки, что приводит к пересмотру и уточнению существующих представлений о механизмах многих процессов в организме человека и животных в норме и патологии. Этот процесс можно рассматривать как один из прикладных аспектов современной иммунологии.

В последние 40 лет сформировалось новое научное направление, занимающееся изучением влияния ксенобиотиков на неспецифическую резистентность организма и систему иммунитета – иммунотоксикология. В рамках этого перспективного направления выделяют такие разделы, как общая, специальная, промышленная и экологическая иммунотоксикология. В целом дифференциация данного направления соответствует основным разделам токсикологии.

Предметом иммунотоксикологии является изучение влияния на иммунный гомеостаз ксенобиотиков: токсичных химических веществ (ТХВ), фармакологических средств и биологических агентов [Descotes J., 1986]. При этом повреждение системы иммунитета может быть как результатом прямого, так и непрямого действия ксенобиотиков и/или их метаболитов. Кроме того, на ксенобиотики (или их метаболиты) может развиваться иммунная реакция с образованием антител. Следует отметить и возможность модификации токсичных соединений, в результате чего они приобретают свойства антигена.

Возможно также образование антител к комплексу токсикант – антиген.

Изучение влияния ксенобиотиков на иммунный гомеостаз является одной из наиболее актуальных проблем токсикологии. Это обусловлено, во-первых, колоссальным загрязнением окружающей среды различными соединениями, извращающими иммунные реакции и вызывающими связанные с нарушением иммунного статуса различные заболевания; во-вторых, с необходимостью коррекции нарушений иммунного гомеостаза как в случае хронических интоксикаций, так и при отравлениях, авариях на химических предприятиях, несчастных случаях на производстве, в быту, при уничтожении, хранении и транспортировке запасов токсичных химикатов – ТХ (боевых отравляющих веществ); в-третьих, до сих пор может возникать необходимость иммунокоррекции пораженных при применении отравляющих веществ с террористическими и военными целями.

В настоящее время в Российской Федерации токсичные химикаты иприт, люизит, российский VX, зарин и зоман подлежат уничтожению согласно международным соглашениям на специальных промышленных объектах. Не исключена возможность аварий на данных объектах, а также массовые поражения людей при транспортировке и хранении ТХ. Позитивные шаги международного сообщества, в том числе и России, в области ликвидации и полного запрета химического оружия (ХО) не уменьшили реальность его использования в террористических и криминальных целях [Петров А.П., Софронов Г.А., 2004]. В настоящее время за рубежом активно ведутся разработки способов дегазации ТХ, поиски высокоэффективных антидотных средств при поражении ими, исследуются биомаркеры для дифференциальной диагностики между поражением кожи ипритом или люизитом, изучаются особенности поражения структур головного мозга фосфорорганическими отравляющими веществами (ФОВ) и их отдаленные эффекты [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2006; Arroyo C.M. et al., 2004, Bide R.W. et al.,, 2005; Amitai G. et al., 2006].

Зарин и вещество VX являются отравляющими веществам (ОВ) нервно-паралитического действия. Они относятся к фосфорорганическим веществам (ФОВ), обладающим антихолинэстеразным эффектом. Иприт и люизит – ТХ кожно-нарывного действия (везиканты), их запасы, подлежащие уничтожению, значительно превышали запасы других ОВ. Из ТХ

кожно-нарывного действия иприт широко принялся в период первой мировой войны и 10 локальных вооруженных конфликтов XX столетия [McManus J. et al., 2005; Saladi R.N., et al., 2006], в частности в Ирано-Иракском конфликте [Balali-Moode M. et al., 2005].

Токсичные вещества оказывают разнонаправленное воздействие неодинаковой интенсивности на разные звенья иммунной системы. Поэтому выделение группы токсикантов по их преимущественному действию на доиммунные биологические механизмы резистентности к инфекциям Т-, В-систему иммунитета, различные субпопуляции иммунокомпетентных клеток и иммунные реакции весьма относительно. Следует принимать во внимание и то обстоятельство, что данные ряда авторов в отношении иммунотропных свойств ТХВ противоречивы.

Острые отравления токсикантами, в частности, токсичными химикатами, могут сопровождаться инфекционными осложнениями, связанными с нарушением доиммунных биологических механизмов резистентности к инфекциям, снижением неспецифической резистентности организма и показателей иммунного статуса. Разработка наряду с антидотными средствами способов снижения поражения системы иммунитета различными ТХВ предполагает дальнейшее изучение их иммунотропных эффектов.

Получение новых и уточнение уже известных данных в отношении иммунотоксичности ТХВ позволит обосновать адекватную характеру нарушений иммунного гомеостаза возможность использования из большого арсенала иммуностимуляторов наиболее перспективных и обоснованных результатами проведенных исследований лекарственных средств для профилактики и лечения постинтоксикационных инфекционных осложнений и заболеваний.

ГЛАВА 1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ИММУНОЛОГИИ И ИММУНОТОКСИКОЛОГИИ

Механизмы сохранения иммунного гомеостаза, иначе говоря, освобождение организма от повреждения собственных клеток и от инфекций включают неспецифические (неспецифическая резистентность организма - НРО) и специфические (иммунные) реакции. В англоязычной литературе термин «врожденный иммунитет» (innate immunity) соответствует используемому в русскоязычной литературе термину «доиммунные механизмы резистентности» [Хаитов Р.М. и соавт., 2002], или «неспецифическая резистентность организма - НРО» [Петров Р.В., 1987, 1991]. В связи с продолжающейся интенсивно развиваться иммунологией меняются подходы к определению некоторых понятий и определений. В настоящее время иммунитетом называются только те защитные процессы, которые реализуются с участием лимфоцитов [Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. Новое определение понятия иммунного ответа характеризует его как «процесс взаимодействия антигена и организма, распознавания поврежденных патогеном клеток и тканей лимфоцитами с целью деструкции и выведения их из организма» [Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Ряд авторов считают понятие «иммунный гомеостаз» неприемлемым в связи с тем обстоятельством, что система иммунитета постоянно находится в изменении, обусловленном влиянием антигенных, физических и других факторов. Это, безусловно, так, но существуют такие состояния иммунной системы, которые вполне можно охарактеризовать, как патологические. Не вызывает сомнения, что патология иммунной системы – первичные и вторичные иммунодефицитные состояния – это состояния дисфункции системы иммунитета, которое можно определить, как нарушение иммунного гомеостаза. Иммунный ответ тесно связан с доиммунными механизмы резистентности. Это обусловлено участием системы фагоцитоза (моноцитарно-макрофагальной системы - ММС), системы комплемента, лизоцима, эозинофильной цитотоксичности и других факторов в иммунном ответе, первой стадией которого является доиммунное воспаление. Доиммунные механизмы резистентности определяется несколькими факторами защиты организма, к которым относятся биологические барьеры (кожные и слизистые оболочки), микробицидные экзосекреты (соляная кислота желудка, ферменты кишечника, бактерицидные компоненты слюны,

гидролитические ферменты, лактопероксидаза, лактоферрин), сосудистые реакции (локальный отек), белки острой фазы (С-реактивный белок, маннансвязывающий лектин), доиммунный фагоцитоз. Факторами НРО являются также бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), лизоцим, комплемент, тробоцитарный катионный белок (β-лизин), система пропердина, интерфероны, а также эндогенные пептиды-антибиотики. Ментальная поведенческая защита (правила асептика и антисептики, защита от переохлаждения организма, исключение контактов с инфицированными лицами т.п.).

Важную роль в обеспечении НРО играют нервная и эндокринная системы, а также пассивные механизмы защиты, определяемые генетическим контролем синтеза клеточных структур и т.п. [Петров Р.В., 1987; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Система иммунитета – это в первую очередь лимфоцитарный иммунитет, который обеспечивает иммунологическую защиту и определяет реализацию таких форм специфических реакций, как синтез иммуноглобулинов, формирование различных видов гиперчувствительности, иммунологической памяти, иммунологической толерантности, идиотип-антиидиотипических взаимодействий [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М и соавт., 2002].

1.1. Доиммунные биологические механизмы резистентности

1.1.1. Рецепторы распознавания «чужого»

Рецепторы распознавания «чужого» – это первичные рецепторы для патогенов PRR (pattern recognition receptors – рецепторы, распознающие «картинку» (узор) на поверхности патогена) и Toll (в переводе с английского – звон колокольчика у входных дверей). При попадании патогена (в частности, микроорганизмов) в организм они могут быть инактивированы доиммунными биологическими механизмами резистентности. Если данная система не справляется с патогеном, включаются механизмы лимфоцитарного иммунитета. Для реакции организма на патоген должна поступить информация для реализации процессов доиммунного воспаления. Эту информацию распознавания клетки доиммунной резистентности получают при помощи двух типов рецепторов реакциями [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Diamond G., 2000, Holgate S.T., 2000, Medzhitov R., 2000, Bals R., 2004].

Первый тип – растворимые рецепторы для патогенов PRR. Эти белки распознают микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности. Соединясь с патогеном одним концом рецептор PRR другим «хвостом» связывается со специальными рецепторами фагоцитов, что обеспечивает передачу информации о патогене из раствора в клетки доиммунного воспаления (доиммунных механизмов защиты). На поверхности микроорганизмов присутствуют повторяющиеся карбогидратные и липидные структуры, которых нет на клетках организма хозяина. По ним и распознается микробная клетка. Для распознавания микробных структур на клетках млекопитающих имеются 4 растворимые молекулы, являющиеся рецепторами для микробных структур (MBL –маннансвязывающий лектин; CRP – С-реактивный протеин; LBP – липолисахаридсвязывающий липид; C1g – компонент системы комплемента [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Medzhitov R., 2000, Bals R., 2004].

Второго типа Toll-рецепторы встроены во внешнюю мембрану дендритных клеток и макрофагов и обеспечивают либо проведение сигналов о патогенах в клетку, либо сами непосредственно связывают продукты патогенов. Рецепторы Toll открыты в процессе работ с дрозофилами в 1985-1988 годах C. Nusselein-Vollhardt и K.V. Anderson и соавторами и не имели отношения к иммунитету. В последующем в 1991-1995 годах гомологичные сигнальные последовательности в цитоплазматических участках Toll-рецепторов были обнаружены у млекопитающих в цитоплазматическом участке рецептора для ИЛ-1 и получили название TIR (Toll/interleukin-1 receptor) [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Diamond G., 2000, , Bals R., 2004].

Рецепторы PRR и Toll являются носителями эволюционной памяти многоклеточных о том, что «не свое является чужим». У человека по завершении программы «Геном человека» нашли 10 гомологичных (аналогичных) кодирующих последовательностей нуклеотидов и соответствующих Toll-подобных белков, которые получили название TLR (Toll-like receptors). Эти рецепторы выявлены на дендритных клетках и макрофагах и имеют в зависимости от клетки хозяина и особенностей их реакции на различные микроорганизмы следующие варианты: TLR-2, TLR-4, TLR-7, TLR-9, [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Holgate S.T., 2000, Bals R., 2004]. Активация TLR приводит к инициации в клетке фактора транскрипции NFkB с последующей экспрессией продуктов генов противовоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли-α –

TNFα. или ФНОα), ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и костимуляторых молекул для выполнения дендритными клетками и макрофагами антигенпредставляющей функции для Т-лимфоцитов (начало развития лимфоцитарного иммунного ответа) [Fleisher T.A., 2004, Reljic R., 2005].

Активация «доиммунных» рецепторов для патогенов приводит к развитию локальных сосудистых реакций, управляемых медиаторами дегранулирующих тучных клеток (гистамином, ФНОα) и ферментными каскадами, запускаемыми активированным травмой и инфекцией эндотелием (кининовая система и система коагуляции), в результате которых наступает эксудация в ткани белков сыворотки крови, в том числе опсонинов; фагоцитоз патогена и его переваривание; хемотаксис в очаг нейтрофилов, моноцитов и других лейкоцитов; индукция биосинтеза в нейтрофилах антибактериальных пептидов (α- и β-дифензинов); биосинтез цитокинов доиммунного воспаления, обеспечивающих развитие лимфоцитарого иммунного ответа) [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Robert C., Kupper T.S., 1999, Delves P.J., Roitt I.M., 2000, Moore B.B. et al., 2001, Reljic R. et al., 2005].

1.1.2. Система комплемента

Комплемент был открыт в начале века Jules Bordet вскоре после открытия антител. Комплемент представлял собой феномен присутствия в сыворотке крови «чего-то», что инактивируется прогреванием сыворотки крови при 56 ^{0}С, опсонирует бактерии для фагоцитоза, содействует лизису бактерий в присутствии антибактериальных антител. Этот фактор дополнял антитела для реализации лизиса бактерий и активации фагоцитоза бактерий (to complement – дополнить).

В дальнейшем установили, что комплемент представляет собой сложную биологическую систему из 20 компонентов, активация которой может иметь два основных последствия: необратимое повреждение мембран чужеродных клеток и инициацию специфических функций иммуноцитов. Компоненты комплемента С1, С2, С3, С4, С5, С6, С7, С8, С9 существуют в плазме в неактивной форме и активируются в строгой последовательности (каскадный механизм). Известны два пути активации комплемента - классический, запускаемый реакцией антиген-антитело, и альтернативный (неспецифический). Система комплемента играет важную роль в защите организма от инфекции, принимая участие в неспецифической

и иммунологической резистентности организма [Кульберг А.Я., 1986; Осипов С.Г., Титов В.Н., 1984; Kondo M. et al., 1986, Ройт и соавт., 2000, Хаитов В.М. и соавт., 2000]. Разносторонняя биологическая активность комплемента обеспечивает высвобождение гистамина и других вазоактивных аминов, стимуляцию окислительного метаболизма, активацию внутриклеточных процессов, инициацию направленной миграции лейкоцитов, антителозависимую клеточную цитотоксичность, потенцирование фагоцитоза, модуляцию иммунных реакций, лизис бактерий и вирусов. Бактерии уничтожаются либо в результате прямого литического действия, либо путем фиксации на их поверхности фрагментов комплемента, которые распознаются рецепторами фагоцитов. Опухолевые клетки лизируются комплементом при активации классического пути антителами, а в ряде случаев – по альтернативному механизму. Существует еще и лектиновый путь активации комплемента.

Различные фрагменты 3-го компонента комплемента (СЗ) оказывают селективное действие на разные субпопуляции лимфоцитов и могут моделировать иммунный ответ на многих уровнях, включая рециркуляцию, переработку антигена, пролиферацию и дифференцировку клеток [Петров Р.В., 1987; Ройт А., 1991; Kondo M. et al., 1986].

Компонент комплемента C1g осуществляет связывание с комплексом антиген-антитело, C4b и C3b – связывание с мембраной бактерий и опсонизацию к фагоцитозу; C1r, C1s, C2b, Bd, D – являются протеазами, активирующими другие компоненты системы путем расщепления, медиаторы воспаления – C5a, C3a; C5b, C6, C7, C8, C9 - протеины, перфорирующие мембрану клетки-мишени; CR1, CR2, CR3; CR4, C1gR – рецепторы для белков комплемента на клетках организма; Clinh, C4bp, CR1, MCP, DAF, H, I, P, CD59 – ингибиторы активации и блокаторы активности. Клеточные рецепторы для компонентов комплемента экспрессированы на моноцитах, макрофагах, ПЯЛ, В-лимфоцитах, фолликулярных дендритных клетках, эритроцитах, тромбоцитах, тучных клетках и эндотелии сосудов. Соединение компонентов комплемента с рецепторами клеток вызывает реализацию различных реакций: опсонированный фагоцитоз, активацию В-лимфоцитов, транспорт иммунных комплексов на эритроцитах, активация макрофагов, дегрануляция и активация тучных клеток [Кульберг А.Я., 1986; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Данные литературы свидетельствуют, что ряд компонентов системы комплемента обладают эстеразной активностью [Кульберг

А.Я., 1986; Becker E.Z. et al., 1956, 1964, 1966, 1967, 1971, 1976]. Антихолинэстеразные токсиканты, в частности ФОВ, а также хлорированные углеводороды способны ее существенно снижать [Тиунов Л.А., 1990; Забродский П.Ф. и соавт., 1997; 2003, 2004б], вызывая таким образом редукцию системы комплемента. Можно предположить, что слабо выраженным влиянием на ферменты системы комплемента могут обладать метаболиты спиртов и другие соединения.

1.1.3. Белки острой фазы

Белки острой фазы (БОФ) – С-реактивный протеин (CRP), маннансвязывающий лектин, фибриноген, сурфактанты SP-A, SP-D – являются растворимыми рецепторами для патогенов. Концентрация этих белков существенно возрастает при патологических процессах, затрагивающих весь организм в целом. Название С-реактивный протеин (CRP) происходит из наблюдения, что этот белок связывает стафилококков группы С. Однако этот белок способен связывать и другие бактерии и отправлять их на фагоцитам для поглощения и переваривания (связывание с белком для поглощения клеткой – фагоцитом называется опсонизацией (от лат. opsonen – делающий вкусным). Растворимые белки, связывающие одним концом (рецептором) микроб, а другим – фагоцит, называют опсонинами.

CRP – петраксин – белок, сформированный из 5 субъединиц. CRP имеет химическое сродство к фосфорилхолину, входящему в состав клеточных мембран бактерий и грибов. С фосфорилхолином, входящим в состав фосфолипидов, мембран клеток млекопитающих С-реактивный протеин не связывается. CRP способен, кроме опсонизации микроорганизмов, активировать систему комплемента по классическому пути (связывание с C1g). При этом С-реактивный протеин, будучи иммуноглобулином лишенным вариабельности, действует на иной рецептор молекулы C1g в отличие от специфических иммуноглобулинов.

Маннансвязывающий лектин (МСЛ) относится к семейству коллектинов – кальцийзависимых сахарсвязывающих протеинов (лектины – белки, связывающие с высокой аффинностью углеводы). МСЛ опсонизируют микробы для фагоцитоза моноцитами, которые от отличие от более зрелых макрофагов еще не экспрессируют собственный рецептор для маннозы. Поверхностные углеводы млекопитающих «экранированы» углеводородно-белковыми

соединениями и не способны взаимодействовать с МСЛ. Маннансвязывающий лектин по вторичной структуре и по функции похож на молекулу C1g и способен активировать протеазы, инициируя каскад комплемента (расщепляет C4 и C2). Этот путь активации системы комплемента называется лектиновым.

Сурфактантные протеины легких SP-A, SP-D (surfactant protein A, D) имеют, вероятно, существенное значение в опсонизации легочного патогена одноклеточного гриба *Pneumocystis carinii.*

Действие токсикантов на белки острой фазы практически не описано. Можно полагать, что ряд токсикантов способны взаимодействовать с БОФ. Однако вряд ли следует ожидать существенного изменения при этом влияния при доиммунных механизмов резистентности. Можно предположить возможность повреждения собственных тканей организма в результате взаимодействия ядов с «экранированными» поверхностными углеводами млекопитающих вследствие повреждения углеводородно-белковых соединений «экрана». Существуют основания считать возможным взаимодействие антихолинэстеразных токсичных химикатов с маннансвязывающим лектином по вторичной структуре и по функции похожим на C1g.

1.1.4. Лизоцим

Лизоцим (мурамидаза) - один из важных факторов неспецифической защиты организма. Он был открыт в 1909 г. П.К. Лащенковым и изучен в 1922 г. А.Флемингом. Это термостабильный кристаллический белок типа муколитического энзима с молекулярной массой от 10000 до 25000 Д. Содержится во многих секретах, жидкостях и тканях [Диксон М., Уэбб Э., 1982]. Ферментативная специфичность лизоцима заключается в разрушении связи между N-ацетилмураминовой кислотой и N-ацетилглюкозамином в мукополисахариде, образующем оболочку многочисленных микроорганизмов, особенно грамположительных. Образующиеся гликопептиды обладают адъювантной активностью, стимулируют продукцию антител, повышают митотическую активность иммуноцитов, индуцируют гиперчувствительность замедленного типа. Источником лизоцима являются нейтрофильные гранулоциты и моноциты [О.В.Бухарин и Васильев Н.В., 1974; Гембицкий Е.В. и соавт., 1987]. Некоторые иммунологические реакции связаны с активностью лизоцима. Так, комплекс "IgA-антиген" проявляет

антибактериальную и нейтрализующую активность после активации комплементом только в присутствии мурамидазы [Nouragargh S., Holt J.R.S., 1986].

Использование показателя лизоцимной активности для оценки действия ксенобиотиков на организм свидетельствует о высокой чувствительности данного теста [Денисенко П.П., 1980; Забродский П. Ф., 1998, 2000; Германчук В.Г., 2000].

1.1.5. Тромбоцитарный катионный белок

Одним из факторов сохранения и поддержания неспецифической резистентности организма является тромбоцитарный катионный белок (ТКБ) сыворотки крови, ранее известный как β-лизин [Бухарин О. В и соавт.,1977; 1985; 1998]. β-лизин – бактерицидное вещество сыворотки крови, избирательно активное в отношении грамположительных микроорганизмов и спорообразующих бацилл. Открыт в 1886 г. G. Nuttal и изучен в 1926 г. A. Pettersson, назван β-лизином в отличие от α-лизина (комплемента). β-лизин обнаружен в сыворотке крови, слюне, секрете слезных желез и других жидкостях организма. Источником ТБК являются тромбоциты. Механизм действия ТБК обусловлен изменением проницаемости мембран микроорганизмов и блокадой их окислительного метаболизма. Метод определения активности ТВК основан на избирательной чувствительности к его бактерицидному действию индикаторной культуры - *B. subticis.*

1.1.6. Фагоцитоз

Фагоцитоз был открыт И.И. Мечниковым в 1882 году. Процесс фагоцитоза осуществляется микрофагами (гранулоцитами) и макрофагами (моноцитами крови, клетками пульпы селезенки, эндотелия кровеносных сосудов, полибластами, гистиоцитами и др.) [Хаитов Р.М., 2002; Solberg C. O., 1984]. В настоящее время фагоцитоз рассматривается как сложный многоступенчатый процесс, начинающийся с захвата фагоцитом чужеродной субстанции и кончающийся ее перевариванием (хемотаксис; адгезия; пиноцитоз; формирование фагосомы; слияние фагосомы с гранулами цитоплазмы, приводящее к активированию гидролаз, пироксидаз, протеиназ; гибель и переваривание объекта фагоцитоза, выброс продуктов деградации) [Хаитов Р.Я., Пинегин Б.В., 1995; Hong R. , 1984].

Фагоцитоз подразделяется на неиммунный и иммунный (в случае наличия информации - антител к антигенам клетки мишени). Фагоцитоз может быть завершенным и незавершенным.

Помимо действия ферментов уничтожение чужеродной клетки может осуществляться путем "дыхательного" (кислородного) взрыва [Nogueira N., 1984]. В настоящее время получены данные, свидетельствующие о том, что в фагоцитарной реакции активное участие принимает радикал оксида азота ($NO^{\cdot}$), НАДФ-Н-оксидазы, супероксиддисмутаза, перекись водорода, супероксид анион, синглетный кислород, радикал гидроксила, гипохлорид. Агрессивные окислители работают внутри клетки, а на определенных этапах воспалительной реакции секретируются во внеклеточную среду. Макрофаги продуцируют ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и TNF-α (α-фактор некроза опухоли), простагландины, лейкотриен B_4 (LTB_4), фактор, активирующий тромбоциты. Нейтрофилы синтезируют и выделяют в кровь TNF-α и ИЛ-12, а также хемокин ИЛ-8 [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Функция макрофагов включает не только фагоцитоз, но и представление переработанного (модифицированного) в лизосомах антигена Т-лимфоцитам. Взаимодействие макрофагов, реэкспрессирующих в модифицированном виде антиген на клеточной мембране, Т- и В-клеток обеспечивает синтез антител на тимусзависимые антигены. Макрофаги секретируют лизоцим, компоненты комплемента (С1, С2, С3, С4, С5, С6, фактор В), интерферон, эстеразы и пр.

Действие токсикантов на фагоцитоз изучено недостаточно [Забродский П.Ф., 1998; Luster M.J. et al., 1987]. При этом, как правило, отмечается снижение функции макрофагов и нейтрофилов. Однако в ряде случаев отмечается кратковременная активация фагоцитарной активности [Шубик В. М., 1976; Забродский П.Ф., 1998]. Кислородзависимые антиинфекционные системы фагоцита оценивают чаще всего в НСТ-тесте (тест восстановления нитросинего тетразолия – НСТ, основанный на способности поглощенного фагоцитом растворимого красителя НСТ в нерасворимый диформазан под влиянием супероксиданиона, образующегося в НАДФ-Н-окидазной реакции.) [Nouragargh S., Holt J.R.S., 1986], а кислороднезависимые микробоцидные системы фагоцита - в лизосомально-катионном тесте [Elsbach P., Weise J., 1985].

Фагоцитарную активность можно определять, используя культуры различных микроорганизмов (определяют активность фагоцитоза – процент активно фагоцитирующих клеток, интенсивность фагоцитоза

– среднее число микроорганизмов, приходящиеся на один фагоцит, завершенность фагоцитоза, эффективность фагоцитоза) [Новиков Л.В. и соавт., 1981]. Существует способ оценка фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов, основанный на восстановлении поглощенного фагоцитом растворимого красителя нитросинего тетразолия (НСТ) в нерастворимый диформазан под влиянием супероксиданиона, образующегося в НАДФ-Н-окидазной реакции. НСТ-тест интегрально характеризует кислородзависимые антиинфекционные системы фагоцита [Маянский Д. Н., 1986; Segal A. W., 1974; Elsbach P., Weise J., 1985].

1.2. Иммунитет

Иммунитет определяют как процесс взаимодействия антигена и организма, распознавания поврежденных патогеном клеток и тканей лимфоцитами с целью деструкции и выведения их из организма [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Иммунная система – это совокупность всех лимфоидных органов и скоплений лимфоидных клеток тела. Лимфоидная система организма представляет собой морфологический синоним иммунной системы и осуществляет иммунный ответ. В лимфоидной системе различают центральные (тимус, костный мозг) и периферические (лимфатические узлы, селезенка, кровь) органы. Клетки, осуществляющие иммунные реакции, называют иммуноцитами, или иммунокомпетентными клетками (ИКК).

Формирование специфического иммунного ответа происходит при соблюдении следующих условий:

1. Наличие чужеродного агента с достаточно сложной структурой, способного индуцировать начало процесса (антигена).

2. Наличие ИКК организма, способных к взаимодействию именно с данным антигеном, и, следовательно, отличающих его от всех других. Каждая ИКК способна к взаимодействию с одним антигеном.

3. Способность клеток после контакта с антигеном размножаться, дифференцироваться в организме и дать начало более многочисленной и зрелой популяции клеток, обусловливающих иммунный ответ.

4. Неспособность организма вырабатывать иммунный ответ на собственные антигенные вещества (аутотолерантность), т.к. в противном случае постоянно происходили бы аутоиммунные процессы, несовместимые с жизнью.

5. Наличие иммунологической памяти, обеспечивающей количественно и качественно более выраженный ответ на повторное действие антигена (вторичный ответ) или ареактивность, если к данному антигену организм обладает иммунологической толерантностью.

Выделяют три стадии иммуногенеза. Первый этап – дифференцировка клеток лимфоидного и миелоидного ряда до попадания в тимус или костный мозг. На этой стадии количество митозов составляет примерно 6–7. Второй этап начинается после выхода иммунокомпетентных клеток из тимуса и костного мозга и их взаимодействия. Классический пример кооперации иммуноцитов – взаимодействие Т-, В- клеток и макрофагов. На данном этапе происходит 2–3 митоза клеток. Третий этап – образование эффекторных клеток: памяти, киллеров, антителообразующих и других. При этом отмечается такое же количество митозов, как и на первом этапе [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

В основе иммунного ответа лежит функция лимфоцитов. Лимфоцитарный иммунитет впервые был открыт у высших позвоночных. Осуществляют его Т-, В-лимфоциты и вспомогательные клетки.

В ответ на попадание чужеродных или собственных антигенов, микроорганизмов, злокачественно трансформированных клеток, появляющихся при опухолях или внесенных при трансплантации чужеродных тканей, в организме возникают гуморальные и клеточные иммунные реакции. Гуморальные реакции требуют присутствия антител, комплемента, полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов. Поскольку антитела вырабатываются В-лимфоцитами (символы Т и В введены в иммунологическую литературу И. Ройтом в 1969 г. от определений на английском языке "тимусзависимая" и "бурсозависимая" система) гуморальные иммунные реакции определяют как В-клеточный иммунитет (В-система иммунитета). Синтез антител - белков, относящихся к тому или иному классу иммуноглобулинов (M, G, A, E, D), продукция которых стимулируется после парентерального поступления антигена, отражает функцию В-системы иммунитета. Сравнительная характеристика Т- и В-лимфоцитов человека представлена в табл. 1.1

Таблица 1.1

Сравнительная характеристика Т- и В-лимфоцитов человека

Характеристика		Т-лимфоциты	В-лимфоциты
Происхождение		Костный мозг	Костный мозг
Созревание		Тимус	Костный мозг, лимфоидные образования кишечника
Содержание в крови, %		65-80	8-15
Продукты главного комплекса гистосовместимости	I класс II класс	+ – (после активации +)	+ +
Рецепторы для антигена Рецепторы для эритроцитов: барана мыши		CD3 + –	Иммуноглобулины – +
Митогены		ФГА, Кон-А, анти-Т-антитела	Липополисахариды антиглобулины
Участие в гуморальном ответе: индукция образование антител		 + –	 + +
Участие в клеточном иммунитете Клетки памяти:		+ –	 +
Рецепторы для комплемента		–	+
Рецепторы для вируса Эпштейн-Барра		–	+
Рецепторы для вируса кори		+	–

1.2.1. Индукция иммунного ответа

В ответ на антигены патогена (микроорганизмы, поврежденные ткани) рецепторы В- и Т-клеток начинают генерироваться «вслепую». И только лимфоциты, специфичные для данного патогена, подвергаются отбору (селекции) и последующей клональной экспансии. Таким образом, важнейшим требованием для индукции иммунного ответа является транспорт антигена от места его проникновения в организм до соответствующей области лимфоузла. Хотя некоторые микроорганизмы могут «напрямую» поступать в эти зоны, транспортировка антигенов - это специализированная функция так называемых антигенпредставляющих клеток – важнейшего звена в интеграции доиммунных механизмов резистентности и иммунитета [Robert C., 1999: Delves P.J., 2000: Moore B.B., 2001; Fleisher T.A., 2004: Reljic R., 2005].

К антигенпредставляющим клеткам относят дендритные клетки, макрофаги и В-клетки (рис. 1.1).

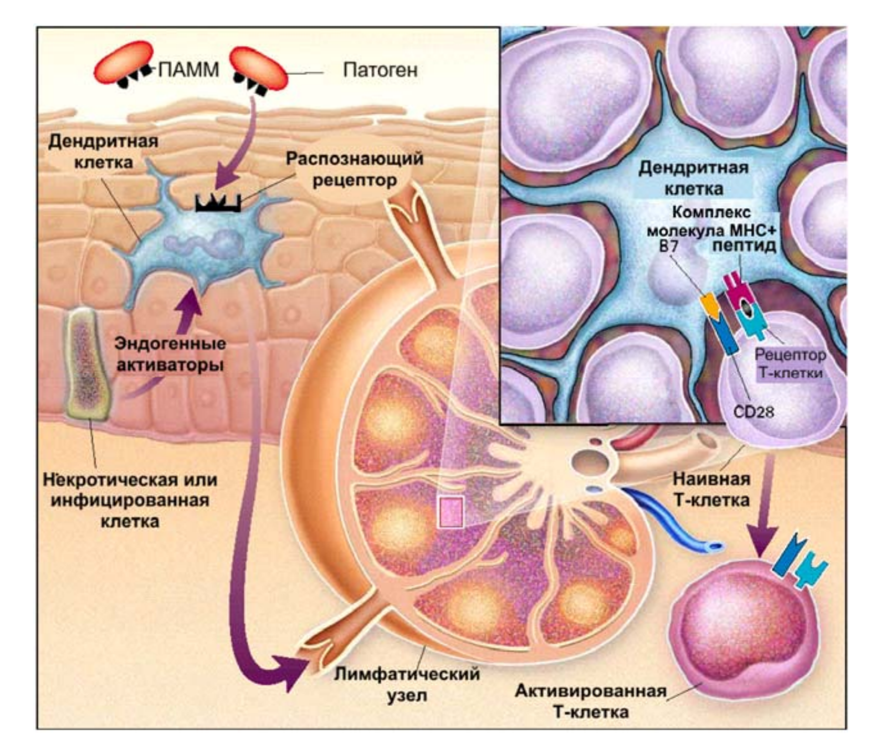


Рис. 1.1. Представление антигена Т-клетке

Антигенпредставляющие клетки поглощают экстрацеллюлярные антигены, но активизируются только в том случае, если рецепторы на их поверхности распознают определенную патоген-ассоциированную молекулярную модель (ПАММ), то есть антиген, соединеный с молекулой главного комплекса гистосовместимости.

Патоген-ассоциированные молекулярные модели (ПАММ) позволяют рецепторам на дендритных клетках и макрофагах распознавать и различать как патогены. Активизированные дендритные клетки и макрофаги, становясь антигенпрезентирующей клеткой, образуют на своей поверхности соединение молекулы комплекса гистосовместимости (МНС) и пептидов, полученных в результате внутриклеточной обработки чужеродного антигена. Это соединение предназначено для рецепторов высоко специализированной CD28-Т-клетки – активного участника иммунного ответа. Активация также заставляет дендритные клетки увеличивать экспрессию В7-костимулируюших молекул (по Delves P.J., Roitt I.M., 2000).

Антигенпредставляющие клетки распознают, поглощают антиген. Затем происходит трансформация чужеродного антигена в иммуногенные пептиды для последующего их объединения с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС – major histocompatibility complex). Одним из крупнейших открытий в области иммунологии явилось доказательство того, что рецепторы Т-лимфоциты могут распознавать антиген исключительно в составе главного комплекса гистосовместимости (класса I или II), сопряженным (соединенным) с антигеном (иммуногенным пептидом) [Masten B.J., 1999: Rissoan M.C., Banchereau J., 2000; Lambrecht B.N., 2001; Santiago-Schwarz F., 2004].

Стволовые клетки непрерывно мигрируют из костного мозга в тимус, где они трансформируются в Т-клетки, подвергаясь при этом ряду процедур селекции (рис. 1.2.).

Т-клетки обнаруживают чужеродные антигены, представленные собственными МНС-молекулами (главным комплексом гистосовместимости). В результате случайного характера генерации рецепторов Т-клеток только малая (1–5%) их часть оказывается способной к выполнению этой задачи. Большинство незрелых CD4 и CD8 Т-клеток, не способных распознавать собственные (макроорганизма) МНС-молекулы, подвергаются апоптозу (негативная селекция). Т-клетки, рецепторы которых имеют определенную (среднюю и высокую аффинность) к собственным МНС-молекулам, отбираются корковыми эпителиоцитами (позитивная селекция). Однако многие из этих лимфоцитов потенциально опасны, так как их рецепторы имеют слишком высокое сродство к собственной МНС-молекуле.

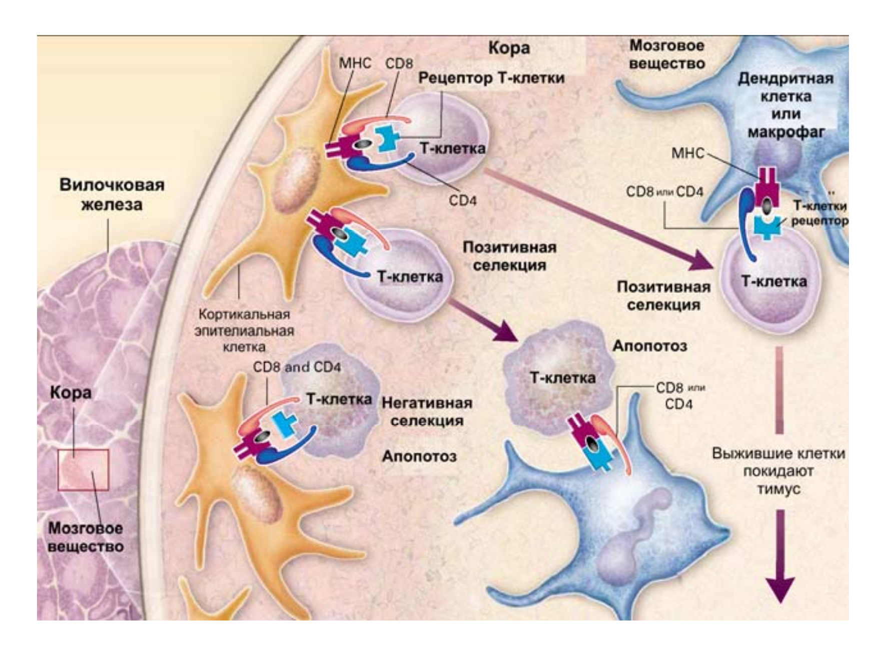


Рис. 1.2. Положительная и отрицательная селекция в тимусе (по Delves P.J., Roitt I.M., 2000).

Эти аутоагрессивные Т-клетки, взаимодействуя с дендритными клетками и макрофагами в мозговом веществе тимуса, отбираются и затем удаляются путем индукции апоптоза (негативная селекция). В результате «остаются» («позитивно» отбираются) Т-клетки с относительно невысокой (средней по силе) аффинностью к собственной МНС-молекуле. Эти лимфоциты и формируют пул Т-клеток, покидающих тимус в форме CD4 или CD8. На периферии они имеют достаточный потенциал для того, чтобы распознавать комплекс из чужеродного пептида плюс собственной МНС-молекулы и становятся активированными, если аффинность взаимодействия превышает некоторый порог [Delves P.J., Roitt I.M., 2000].

Таким образом, при отборе (селекции) Т-клеток происходит последовательно: «негативная селекция» (удаление клеток с низкой аффинностью к антигену), «позитивная селекция» (отбор клеток со средней и высокой аффинностью), «негативная селекция» (удаление клеток с высокой аффинностью к антигену).

При созревании (в пределах тимуса) на поверхности Т-клеток происходит экспрессия большого количества иммунологически

значимых молекул. Многие из них были первоначально охарактеризованы на основе их реактивности к определенным (линейным) моноклональным антителам. Антитела, произведенные различными лабораториями, формировали набор (кластер) и могут быть сгруппированы вместе, если они распознают идентичную молекулу. Это привело к классификации, в которой данная молекула определялась как «антигены кластера дифференцировки клеток» или «кластер дифиниции» («кластер определения»), или CD (cell differentiation antigens или cluster difinition) и номер, например CD1, CD2 и CD3 [Ellmeier W., 1999; Goldrath A.W., 1999; Klein J., 1999; Andrian U.H., 2000; Maekawa Y., 2005].

1.2.2. Т-клеточные иммунные реакции

Рецепторы Т-лимфоцитов CD4- и CD8-молекулы формируют существенную часть рецепторного комплекса Т-клетки. CD4 Т-клетки обычно являются хелперными Т-клетками и распознают антигены, представленные МНС-молекулами II класса, в то время как CD8 Т-клетки - обычно цитотоксичны и распознают антиген, представляемый МНС-молекулой I класса. Первый класс МНС-молекул экспрессируется во всех ядросодержащих клетках. При этом существует возможность передавать информацию о повреждении клетки CD8 Т-киллерам (Т-эффекторам) путем близких межклеточных контактов, представляя комплекс из чужеродного пептида и МНС-молекулы на рецептор Т-эффектора. В то же время активированный в результате контакта с МНС-молекулой II класса CD4 Т-хелпер соответствующие цитокины. Таким образом, эффекторная функция Т-клетки-хелпера не всегда зависит от близкого контакта с В-клеткой, которая должна отвечать на определенный цитокин [Abbas A.K., 1996; Ellmeier W., 1999; Klein J., 2000; Benito J.M.; 2004, Parham P., 2005].

Клеточный иммунитет проявляется в реакциях клеток иммунной системы на чужеродные для данного организма клеточные формы. Клетками-мишенями в этом случае могут быть клетки трансплантата, опухолевые клетки, клетки, зараженные вирусом. Основными эффекторами в реакциях клеточного иммунитета являются Т-киллеры. Цитотоксическое разрушение клеток-мишеней способны осуществлять и другие типы клеток – естественные киллеры, Т-клетки реакции гиперчувствительности замедленного типа, макрофаги, полиморфноядерные лейкоциты. В реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) эффекторные клетки (ЕКК)

разрушают клетки-мишени в присутствии специфических антител, направленных против их антигенных детерминант. Т-система контролирует работу В-системы. Для изучения влияния ксенобиотиков на Т-систему иммунитета исследуют содержание различных субпопуляций Т-лимфоцитов в органах системы иммунитета и крови, оценивают реакции бласттрансформации лимфоцитов, гиперчувствительности замедленного типа, отторжения аллотрансплантата, торможения миграции лейкоцитов, продукцию лимфокинов Т-клетками, естественную и антителозависимую клеточную цитотоксичность и др. [Ройт А. и соавт., 2000].

1.2.3. Гуморальный иммунный ответ

Гуморальный иммунитет относится к антителоопосредованным защитным иммунным реакциям. В-клетки - это антителопродуцирующие (синтезирующие иммуноглобулины) клетки иммунной системы. Их активировация может происходить в результате прямого взаимодействия поверхностных иммуноглобулинов (Ig) В-клетки с эпитопами патогена (Т-независимая активация). Т-независимые антигены являются, главным образом, компонентами стенок бактериальных клеток (например, липополисахарид - ЛПС). Однако главным защитным ответом в борьбе с патогенными микроорганизмами следует считать Т-зависимые иммунные реакции [Ales-Martinez J.E., 1991; Soro P.G., 1999; Xiao W., 2000; Jeurissen A., 2004; Baudler S., 2005].

Иными словами, гуморальный иммунный ответ на наиболее сложные антигены происходит с участием Т-клеток. Активация Т-зависимой иммунной реакции реализуется в результате сложного взаимодействия между антигенпредставляющей клеткой (АПК), антигеном, а также В- и Т-клетками. Типичный сценарий активации включает фагоцитоз чужеродного антигена АПК. Антигенпредставляющая клетка затем перерабатывает белковые компоненты антигена в пептидные фрагменты пептидов и экспрессирует их на своей поверхности (в связанной с МНС – молекулой форме). Этот комплекс распознается затем рецептором Т-клетки на ее поверхности [Parker DC., 1993; Tumang J.R., 1996; Garside P., 1998; Tsuji R.F., 2002; Tangye S.G., 2004].

При гуморальным иммунном ответе на тимуснезависимые антигены определенную роль играет ИЛ-1, продуцируемый макрофагами. Как уже упоминалось, при тимусзависимой иммунной

реакции необходима переработка и представление антигена макрофагами В-лимфоцитам при участии Т-клеток. Т-хелперы включают совместно с макрофагами В-лимфоциты в антителогенез, а различные клетки-супрессоры и супрессорные факторы тормозят этот процесс. При этом их миссия состоит в блокировании аутоиммунных реакций и торможении гиперактивности В-антителопродукции. Роль Т-супрессоров могут выполнять - $CD4^+$ или Th3- лимфоциты (хелперы 3-го типа) и, кроме того, – Th2-клетки (хелперы 2-го типа); CD4-/$CD8^+$ лимфоциты, продуцирующие интерлейкины, ингибирующие рецепторы Т-лимфоцитов (CTLA-4); особые Т-лимфоциты-киллеры.

В настоящее время исходя из функциональной принадлежности, выделяют Т-хелперы 1 типа - Th1-лимфоциты, участвующие в реализации реакций клеточного иммунитета, а также синтезе Ig M, G2a (и формировании ГЗТ), Т-хелперы 2 типа - Th2-лимфоциты, способствующие синтезу IgG1, A, E, D и Th3-лимфоциты, выполняющие регуляторные функции, основной из которых может являться супрессия иммунных реакций [Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Гуморальными факторами супрессии иммунного ответа являются кортикостероиды, интерлейкины и различные лимфокины. Осуществлять роль клеток-супрессоров могут и В-лимфоциты [Хаитова Р. М. и соавт.., 2002]. В англоязычной литературе, рассматривая ИКК, участвующие в антителопродукции (синтезе иммуноглобулинов), используют термин «клеточная версия (составляющая)» иммунного ответа.

1.2.4. Естественные клетки-киллеры

К ЕКК, открытым в 1976 году, относятся клетки, не имеющие антигенных маркеров Т- и В-лимфоцитов (так называемые О-клетки). Предполагают, что ЕКК происходят из предшественников Т-лимфоцитов [Ройт А., 1991]. Поверхность ЕКК имеет маркерные молекулы CD16, CD56, CD57 и CD94 (ЕКК представлены в основном клетками с маркерами CD16 и CD56) [Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. Кроме данных маркеров, на ЕКК обнаружены следующие рецепторы (CD-маркеры): CD2, CD11b, CD16, CD27, CD30, CD39, CD56, CD57, CD62L, CD87, CD94, CD119 и CD132. При этом рецепторы CD2, CD27, CD30, CD62L, CD87, CD132 являются общими для ЕКК и Т-лимфоцитов [Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. Ингибируют цитотоксическую активность ЕКК субпопуляции нормальных (естественных) киллеров CD158a, CD158b [Хаитов Р.М. и соавт.,

2000]. При контакте с клетками опухоли и клетками, пораженными вирусами или паразитами, ксеногенными клетками, ЕКК способны уничтожать их. ЕКК не обладают способностью к фагоцитозу [Петров Р.В., 1983; Ройт А., 1991].

Цитолиз клетки-мишени осуществляется проникновением ферментов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени (порообразование перфорином) [Хаитов Р. М. и соавт., 2002; Nogueira N., 1984; Li Q., Kawada T., 2006]. Кроме того, ЕКК способны обеспечивать уничтожение чужеродной клетки путем реализации "дыхательного взрыва" (поражение активными радикалами кислорода, гидроксильного радикала и т.п.), а также индукцией апоптоза. Активность ЕКК повышается интерферонами, интерлейкинами (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13) [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Kimber I., More M., 1985; Marx J.L., 1986; Li Q., Kawada T., 2006].

При контакте с клетками опухоли, клетками, пораженными вирусами или паразитами, ксеногенными клетками, ЕКК способны уничтожать их без предварительного контакта с антигенами, находящимися на их поверхности. Они узнают определенные структуры высокомолекулярных гликопротеидов, которые экспрессируются на мембране инфицированных вирусом клеток. В литературе 80–90-х годов прошлого столетия ЕКК относили к факторам неспецифической резистентности организма (НРО) [Descotes J., 1986], врожденному иммунитету, наряду с системой комплемента и фагоцитозом [Ройт А., 1991]. В настоящее время ЕКК характеризуют как популяцию лимфоцитов, определяющих лимфоцитарный иммунитет [Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Последние достижения в иммунологии, свидетельствующие о том, что ЕКК и К-клетки, обусловливающие антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) – это одни и те же клетки, отличающиеся лишь механизмами реализации поражения (киллинга, убийства) клеток-мишеней [Ройт А. и соавт, 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Функция ЕКК регулируется, наряду с интерферонами, также эндогенными нейромедиаторами (ацетилхолином, гормонами гипоталамо-гипофизарно-адреналовой и симпатико-адреналовой систем) [Забродский П.Ф., 1993; 1995;2001; Ройт А. и соавт., 2000].

1.2.5. Цитокины

Цитокины – это множество разнообразных биологически активных

молекул, секретируемых клетками с целью воздействия через специфические рецепторы для каждого из цитокинов на рядом расположенную клетку (или на себя же) [Хаитов М.Р. и соавт., 2002]. При попадании антигена в организм выделяют следующие процессы: распознавание антигена, активация клеток, пролиферация и дифференцировка лимфоцитов. Указанные процессы подвергаются регуляции цитокинами (интерлейкинами – ИЛ и различными биологически активными молекулами). Все интерлейкины представляют собой пептидные структуры, состоящие из 100 аминокислотных остатков. Большинство из них получено в виде генно-инженерных рекомбинантных препаратов, что позволяет широко использовать их не только в экспериментах, но и для создания тест-систем обнаружения интерлейкинов, а также в качестве лечебных средств [Georgiev V.St., Albright J.E.,1993]. Цитокины не депонируются в клетках, а синтезируются импульсно «по запросу», начиная с транскрипции мРНК цитокина с соответствующего гена. Исключение составляет фактор некроза опухоли-α (ФНОα, TNFα), который депонируется в гранулах тучных клеток и ИЛ-1, депонирующийся в некоторых количествах в кератиноцитах [Хаитов М.Р. и соавт., 2002].

Существует 5 функциональных групп цитокинов: гемопоэтические, доиммунного воспаления, организаторы лимфоцитарного иммунного ответа, медиаторы иммунного воспаления, противовоспалительные (иммуносупрессорные) цитокины.

Гемопоэтические цитокины регулируют пролиферацию и дифференцировку всех клеток кроветворной системы – GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор-КСФ), M-CSF (макрофанальный КСФ), G-CSF (гранулоцитарный КСФ), эритропоэтин, тромбопоэтин, IL-3 – мульти-CSF, IL-5 - CSF для эозинофилов, IL-7 – CSF для лимфоцитов, SCF – стволово-клеточный фактор, или фактор роста предшественников тучных клеток. К гемопоэтическим цитокинам относят и ИЛ-1 – гемопоэтин-1 (поддерживает рост предшественников кроветворения). К негативным регуляторам гемопоэза относится TNFα и TNFβ. Хемокин MIP-α ингибирует ранние клетки предшественников гемопоэза.

Цитокины доиммунного воспаления делятся на две подгруппы. Первично провоспалительные цитокины – IL-1, TNFα, IL-6 (продуцируют макрофаги и лимфоидные дендритные клетки покровных тканей в очаге внедрения патогена). IL-1, TNFα действуют

преимущественно локально, IL-6 индуцирует синтез белков острой фазы в печени. Вторично провоспалительные цитокины – хемокины обеспечивают локомоторное передвижение лейкоцитов в тканях, поддерживают ангиогенез и продукцию коллагенов соединительной тканью (регенерацию).

Цитокины организаторы лимфоцитарного иммунного ответа (IL-2, IL-4, IL-12, IL-15, IFN-γ) регулируют пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов и ЕКК в периферических лимфоидных органах и тканях. Их продуцируют дендритные клетки и макрофаги, а затем и сами лимфоциты.

Цитокины медиаторы иммунного воспаления: IFN-γ – активатор макрофагов и ЕКК; IL-5 – индуктор и активатор эозинофилов; LT – активатор нейтрофилов; LTα – обеспечивает образование воспалительных гранулем in vivo.

Противовоспалительные (иммуносупрессорные) цитокины: IL-10 – продуцируется макрофагами и ингибирует макрофаги, TGF-β – продуцируется иммунными $CD4^+$ -Т-лимфоцитами (Th3-лимфоцитами) и ингибирует дальнейшую пролиферацию лимфоцитов; IL-4 и IL-13 ингибируют макрофаги, и в определенных реакциях проявляют себя как противовоспалительные цитокины.

На клетках продуцентах цитокинов и их биологических эффектах в моделях на мышах следует остановиться подробнее.

Интерлейкин-1 (ИЛ-1) продуцируется активированными макрофагами, оказывая при этом воздействие на многие клетки структуры. Он активирует гипоталамический центр терморегуляции, являясь эндогенным пирогеном. Весьма существенно, что ИЛ-1 активирует Т-лимфоциты: способствует созреванию тимоцитов, стимулирует продукцию Т-клетками интерлейкина-2, гамма-интерферона и других медиаторов. ИЛ-1 снижает супрессорную активность Т-лимфоцитов повышает их цитотоксичность, активирует созревание В-лимфоцитов и продукцию ими антител. ИЛ-1 способствует продукции простагландинов, активирует моноциты, нейтрофилы, эндотелиальные и другие клетки, способствует воспалительной реакции. Многие эффекты ИЛ-1 осуществляет в комплексе с другими медиаторами.

Интерлейкин-2 (ИЛ-2) продуцируется Т-лимфоцитами как $CD4^+$ (лимфоцитами Th0- типа), так и некоторыми $CD8^+$; стимулируют пролиферацию В-клеток и синтез J-цепи молекулы иммуноглобулина, пролиферацию Т-лимфоцитов, ЕКК.

ИЛ-2 невидоспецифичен, поэтому содержащие его препараты, в

том числе и рекомбинантный ИЛ-2, активны для клеток человека. ИЛ-2 успешно применяется для лечения злокачественных опухолей. Поскольку введенный ИЛ-2 сохраняется в организме менее 30 минут, препарат вводят многократно или используют для активации лимфоцитов больного in vitro с последующим возвратом активированных клеток хозяину.

Интерлейкин-3 (ИЛ-3) продуцируется Т-лимфоцитами (Th1- и Th2-типа), некоторыми $CD8^+$. Стимулирует пролиферацию стволовых клеток и ранних предшественников гемопоэтических клеток (фактор роста ранних предшественников всех ростков миелопоэза).

Интерлейкин-4 (ИЛ-4) также продуцируется активированными Т-лимфоцитами (Th2-типа, $TCR^+/CD4^+/CD8^-$). Ранее он именовался «фактор роста В-клеток», что определяет его свойство стимулировать дифференцировку В-лимфоцитов и синтез иммуноглобулинов, в частности, IgG1 и IgE (переключает синтез иммуноглобулинов на классы Е и. G1. Способствует выживанию Th2-лимфоцитоа, стимулирует их дифференцировку, ингибирует активацию макрофагов, активирует дифференцировку тучных клеток.

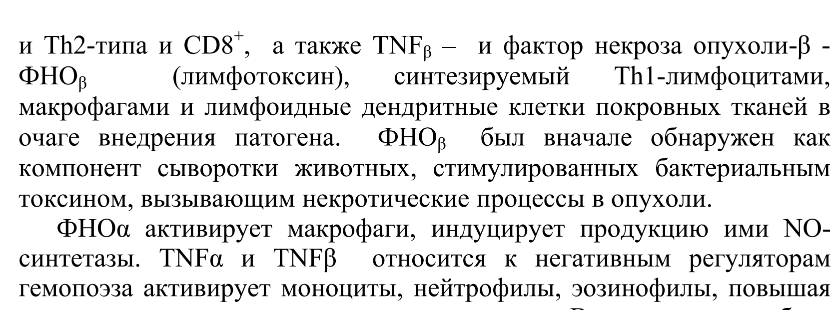
Интерлейкин-5 (ИЛ-5) вырабатывается активированными Т-лимфоцитами (Th2-типа), способствует активации В-клеток, активирует синтез IgA (осуществляет это действие независимо от Т-клеток, за что получил название «Т-замещающий фактор»). ИЛ-5 полифункционален, действует также на эозинофильные и базофильные лейкоциты.

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) продуцируется Т-лимфоцитами (Th0- и Th2-типа), моноцитами и фибробластами. ИЛ-6 продуцируют макрофаги и лимфоидные дендритные клетки покровных тканей в очаге внедрения патогена. Активирует В-клетки, является фактором роста гибридом, стимулирует гепатоциты, способствует дифференцировке Т-клеток в цитотоксические.

Интерлейкин-7 (ИЛ-7) продуцируется клетками стромы костного мозга, тимуса, является ростовым фактором В-клеток; воздействует на ранние предшественники В-клеток, а также на ранние и поздние предшественники Т-лимфоцитов [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Georgiev V.St., Albright J.E.,1993].

Интерлейкин-8 (ИЛ-8) имеет моноцитарное происхождение, является индуктором воспалительной реакции — активирует хемотаксис и активность гранулоцитов.

Среди других лимфокинов достаточно изучены TNFα (фактор некроза опухоли (ФНОα) или кахексин, который продуцируется Th1-



и Th2-типа и $CD8^{+}$, а также TNF_{β} – и фактор некроза опухоли-β - $ФНО_{\beta}$ (лимфотоксин), синтезируемый Th1-лимфоцитами, макрофагами и лимфоидные дендритные клетки покровных тканей в очаге внедрения патогена. $ФНО_{\beta}$ был вначале обнаружен как компонент сыворотки животных, стимулированных бактериальным токсином, вызывающим некротические процессы в опухоли.

ФНОα активирует макрофаги, индуцирует продукцию ими NO-синтетазы. TNFα и TNFβ относится к негативным регуляторам гемопоэза активирует моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, повышая их миграционную и адгезивную активность. Введение или выброс больших количеств ФНОα и ИЛ-1 обусловливает картину септического шока с геморрагическими повреждениями, распадом тромбоцитов, освобождением медиаторов.

Действие ФНОα и ФНОβ (TNFα и TNFβ) на опухоль обусловлено их токсическими свойствами в отношении клеток опухоли (β-лимфотоксин), нарушениями липидного обмена, обусловливающими кахексию (α-лимфотоксин), активацией моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов, местным провоспалительным эффектом [Georgiev V.St., Albright J.E.,1993].

Получение рекомбинантных TNFα и TNFβ открывает возможности прямого воздействия их на опухоль, в частности, при местном применении.

Интерфероны (ИФН) занимают особое место среди цитокинов. К первому типу ИФН относится α-ИФ и β-ИФ, индуцируемых вирусами а также двухспиральной РНК. Эти ИФ обладают противовирусными (в отношении клеток, пораженных вирусами) действием. α-ИФ продуцируется лейкоцитами, а β-ИФ - фибробластами. ИФ подавляют размножение вирусов в индуцированных ими клетках.

Ко второму типу ИФН относится γ-ИФН (иммунный ИФН), который продуцируется Т-лимфоцитами и лимфобластами. Стимулами к образованию γ-ИФН служат антигены и митогены. γ-ИФН обладает противовирусным и выраженным иммуномодулирующим свойством (подавляет пролиферацию клеток и рост опухолей, усиливает функцию макрофагов, ЕКК, способствует экспрессии на клетках антигенов главного комплекса гистосовместимости и Fc-рецепторов, влияет на образование антител и реализацию клеточного иммунного ответа. Все соматические клетки имеют рецепторы для ИФН.

Следует отметить, что данные в отношении цитокинов находятся в процессе интенсивного изучения и уточнения. Процесс цитокиновой регуляции иммуногенеза далеко не так прост и однозначен. В

настоящее время достаточно хорошо исследовано более 12 типов интерлейкинов, выполняющих различные иммунорегуляторные функции. Общее число известных интерлейкинов дошло до 23 [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. Существуют способы изучения функции цитокинов, основанные на их способности активировать определенную иммунную реакцию. При этом цитокины получают методом молекулярного клонирования с применением технологии рекомбинантной ДНК (генная инженерия). Интерлейкины получают из супернатантов лимфоцитов, стимулированных ФГА или другими митогенами [Georgiev V.St., Albright J.E.,1993; Kimber I., 1996; Dawson M.M., Moore M., 1998].

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ДОИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА И ИММУННОГО СТАТУСА

2.1. Методы оценки доиммунных механизмов резистентности организма

Интегральное состояние неспецифической резистентности организма

Интегральное состояние неспецифической резистентности организма характеризуется устойчивостью организма к инфекции. Ее можно вызвать внутрибрюшинным или внутриплевральным введением крысам или мышам (только данные животные используются в экспериментальной иммунотоксикологии) суспензии суточной культуры *P. vulgaris, E. coli* или других условно-патогенных или патогенных микроорганизмов в различных дозах.

Антиинфекционную интегральную неспецифическую резистентность организма (НРО) чаще всего определяют по летальности крыс или мышей в течение 36 ч от экспериментальной инфекции по среднелетальной дозе (LD_{50}) *P.vulgaris* или *E. coli* и среднеэффективному времени жизни животных (Et_{50}) в опытной и контрольной группах, рассчитанных методом пробит-анализа [Беленький М.Л., 1961]. Введение микроорганизмов производят внутрибрюшинно или внутрилегочно одновременно с применением ТХВ или через 6 - 48 ч после них трем группам животных в дозах, составляющих соответственно 1,5; 2,0; 2,5 млрд микробных тел (для P.vulgaris или E. coli). Могут быть использованы и другие микроорганизмы, при этом может осуществляться их введение в легкие интратрахеально или ингаляционно. Описанный метод являтся первичной скрининговой моделью для оценки влияния химических веществ на доиимунные механизмы резистентности организма [Забродский П. Ф., 1987, 1994; Mc Grath J., Wong S., 1987].

НРО определяется несколькими факторами защиты организма, к основным из которых относятся белки острой фазы (С-реактивный протеин, маннансвязывающий лектин, фибриноген, сурфактанты SP-A, SP-D) бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), системы комплемента и пропердина, сывороточная активность тромбоцитарного катионного белка - ТКБ (β-лизина), лизоцима, интерфероны и фагоцитоз. [Цыбиков Н. Н., 1989; Шмидт Р., Тевс Г.,

1996; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Интегральное состояние неспецифической и иммунологической резистентности организма

Интегральное состояние иммунологической резистентности организма определяют по показателям течения экспериментальной инфекции, вызванной внутрибрюшинным или внутриперитонеальным введением мышам или крысам суспензии суточной культуры условно патогенных или патогенных микроорганизмов. Для *E. coli* эта доза составляет 4,0; 6,0; 9,0 млрд микробных тел через 4 сут после иммунизации данными микроорганизмами в дозе 10^6 микробных тел. В настоящее время в возникновении различных инфекционных осложнений играеи именно условно-патогенная флора [Забродский П.Ф., 1998].

Антиинфекционную интегральную иммунологическую резистентность организма определяли по летальности крыс в течение 48 ч от экспериментальной инфекции по среднелетальной дозе микробных тел (LD_{50}) и среднеэффективному времени жизни животных (Et_{50}) в опытной и контрольной группах, рассчитанных методом пробит-анализа [Беленький М.Л., 1961]. Введение *E. coli* и *P.vulgaris* проводят через различное время (как правило, через 24 ч) после введения ТХВ. Аналогичные инфекционные защитные тесты предлагаются в качестве первичной скрининговой модели для оценки иммунотоксичности химических веществ [Забродский П. Ф., 1987, 1994; Mc Grath J., Wong S., 1987].

Бактерицидная активность сыворотки крови

Бактерицидная активность сыворотки крови является интегральным показателем естественной способности крови к самоочищению от микроорганизмов. Бактерицидное действие сыворотки крови распространяется как на грамположительные, так и на грамотрицательные бактерии. БАСК зависит от многих неспецифических факторов защиты организма и является одним из параметров, используемых для изучения влияния химических соединений на организм. Данный показатель служит чувствительным тестом для выявления ранних изменений в организме под влиянием химических веществ [Бухарин О. В. и соавт., 1985]. Это доказано и более поздними исследованиями [Забродский П. Ф., 1998].

В основе существующих методов определения БАСК лежит оценка индекса ее бактерицидности, подсчет и изучение морфологии микробных клеток, а также изменение оптической плотности микробной взвеси до и после контакта с сывороткой [Ремезов А. И., Башмаков Г. А., 1976]. Данный показатель является чувствительным тестом для выявления ранних изменений в организме под влиянием токсических веществ [Бухарин О. В. и соавт., 1985]. Это доказано и более поздними исследованиями [Забродский П. Ф., 1998].

Существуют основания предполагать, что БАСК может определяться пептидными антибиотиками, синтезируемыми организмом животных и человека. Эти антибиотики, действующие на *E.coli, Salmonella typhimurium, Streptococcus pyogenes* и другие микроорганизмы, открыты и изучены в начале 90-х годов последнего столетия [Boman H.G., 1995]. Вероятно, ТХВ могут изменять их активность путем прямого или косвенного воздействия.

Бактерицидный эффект сыворотки крови определяют по степени нарастания или угнетения оптической плотности микробно-сывороточной взвеси в опыте и контроле. В качестве микроорганизмов используется суточная культура *E. coli.*

В ускоренном фотонефелометрическом методе определения БАСК по О. В. Бухарину и А. П. Луда (1972) бактерицидный эффект сыворотки крови определяют, используя в качестве микроорганизмов суточную культуру *E. coli.* В опытную пробирку с 2,5 мл стерильного бульона Кульбака добавляют 0,5 мл исследуемой нативной сыворотки и 0,1 мл суточной культуры кишечной палочки. В контрольной пробирке вместо сыворотки крови использовался изотонический раствор (0,85%) натрия хлорида (0,5 мл). Расчет БАСК проводили по формуле [Ремезов А.И., Башмаков, 1976].

Определение оптической плотности проводят на фотоэлектроколориметре и спектрофотометре. Следует отметить, что данный метод в экспериметальной иммунотоксикологии используется довольно редко в связи с нестабильностью результатов, обязательная строгая синхронизированность проведения манипуляций в опытных и контрольной пробах).

Сывороточная активность лизоцима

Содержание сывороточного лизоцима определяют методом О.В. Бухарина (1971), основанным на способности лизоцима растворять индикаторный микрококк (*Micrococcus lysodeicticus*), измеряя при этом оптическую плотность опытной и контрольной суспензии

микроорганизмов. Взвесь суточной агаровой культуры микрококка на 1/15 М фосфатном буфере (pH 6,2) стандартизировали по левому барабану фотоэлектрокалориметра до оптической плотности 0,66. В опытную пробирку вносили 0,4 мл фосфатного буфера, 0,1 мл исследуемой сыворотки и 2 мл стандартной взвеси микрококка, Смесь выдерживали при 37^0 С 30 мин, после чего измеряли ее оптическую плотность на ФЭК по правому барабану в кювете №2 с зеленым светофильтром. Для количественной характеристики лизоцима в исследуемой сыворотке с использованием кристаллического лизоцима строили калибровочную кривую, исходя из активности фермента 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 50 мкг в пробе. Во все пробирки с различным содержанием лизоцима вносили с интервалом 30 с по 2 мл стандартизованной суспензии микрококка. Смесь инкубировали при 37 ^{0}C 30 мин, и в каждой пробирке, начиная с первой, измеряли оптическую плотность. Каждое последующее измерение выполняли через 30 с после предыдущего. С помощью калибровочной кривой находили количества лизоцима в исследуемой сыворотке, выраженное в абсолютных единицах. Для удобства расчетов зависимость между оптической плотностью микробной взвеси в опыте и контроле, а также содержанием лизоцима в исследуемой сыворотке использовали таблицу [Ремезов П. И., Башмаков Г. А., 1976].

Определение активности лизоцима проводят в различные сроки после интоксикации химическими веществами.

Тромбоцитарный катионный белок сыворотки крови

Метод определения содержания тромбоцитарного катионного белка (ТБК) в сыворотке крови (активности β-лизина) основан на избирательной чувствительности к его бактерицидному действию индикаторной культуры - *B. subticis.* ТБК определяют фотонефелометрическим ускоренным методом по О.В. Бухарину, Б.А. Фролову и А.П. Луда (1972), учитывая изменение оптической плотности раствора сахарозы при росте в ней индикаторной культуры.

Определение ТКБ проводят в различные сроки после интоксикации ТХВ.

Комлементарная активность сыворотки крови

Определение активности комплемента проводят гемолитическим методом по Л.С.Резниковой (1967) путем титрования комплемента по

50% гемолизу. Гемолитическую систему готовили из 3% суспензии эритроцитов барана (ЭБ) с добавлением антител к ЭБ путем смешивания раствора ЭБ с сывороткой кролика, иммунизированного эритроцитами барана. Суспензию ЭБ смешивают с сывороткой в равном объеме. Сыворотку берут в разведении 1:500 от титра, вызывающего гемолиз ЭБ. Гемолитическую систему выдерживают при 37 ^{0}С 30 мин для сенсибилизации эритроцитов. Исследуемую нативную сыворотку разводят в 10 раз изототоническим 0,85% раствором натрия хлорида и разливают в 10 пробирок в количестве от 0,05 до 0,5 мл с разницей между объемами 0,05 мл. Сыворотку доводят 1,5 мл изототонического раствора NaCl и во все пробирки добавляют по 1,5 мл сенсибилизированной гемолитической системы. Пробирки инкубируют при 37 ^{0}С 45 мин, охлаждали в холодильнике 10 мин, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин и колориметрируют в фотоэлектрокалориметре в кюветах (3 мм) с зеленым светофильтром против дистиллированной воды. Процент гемолиза вычисляют по формуле [Новикова Л.В. и соавт., 1981].

Определение фагоцитарной активности

Один из методов оценки фагоцитарной активности нейтрофилов основан на восстановлении поглощенного фагоцитом растворимого красителя нитросинего тетразолия (НСТ) в нерасворимый диформазан под влиянием супероксиданиона, образующегося в НАДФ-Н-окидазной реакции. НСТ-тест, интегрально характеризует кислородзависимые антиинфекционные системы фагоцита Применяется цитохимический вариант этого метода [Измайлова Ф.А., 1985; Park B.H., 1971]. Учет результатов проводится путем подсчета в каждом мазке 100 нейтрофилов, среди которых определяется процент клеток, содержащих отложения диформазана (НСТ - позитивные нейтрофилы).

Кроме того, оценку фагоцитарно-метаболической активности полиморфноядерных лейкоцитов проводят общепринятыми методами [Хаитов Р.М. и соавт., 1995; Сакаева Д.Д., Лазарева, 1998; Белокрылов Г.А., Попова О.Я., 2002].

2.2. Оценка функции стволовых кроветворных клеток

Долгое время в качестве стволовых кроветворных клеток (СКК) рассматривали клетки, дающие колонии в селезенке облученных

мышей – КОЕс. Однако в последние годы такое предположение было экспериментально опровергнуто. Примитивные СКК (П-СКК) в культуре созревают до стадии КОЕс за 4-6 нед. Несмотря на то что ни КОЕс и ни одна из категорий клеток, способных к колониеобразованию в культуре, не относятся к классу П-СКК [Чертков И.Л. и соавт.,1990], тем не менее, согласно теории клональной саксессии (последовательная смена кроветворных клонов в результате последовательного созревания одной за другой СКК) число КОЕс, мигрировавших из костного мозга (КМ) в селезенку, отражает функциональное состояние клона кроветворных клеток и, следовательно, функции СКК, продуцирующей этот клон. Кроме того, по числу КОЕс можно судить и о функции лимфоидных стволовых клеток, обеспечивающих иммунопоэз [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981].

До последнего времени в литературе [Забродский П.Ф., 1998] описывают содержание КОЕ в селезенке после летального облучения мышей с экранированием ½ голени, как отражение функции стволовых кроветворных клеток (хотя с учетом вышеизложенного такое изложение требует определенных пояснений). Это, на наш взгляд, допустимо, исходя из гносеологических причин, не позволяющим исследователям в прикладных областях токсикологии, физиологии и т.п. достаточно быстро вникнуть в суть сложных концепций (гипотез) гемопоэза.

Влияние ксенобиотиков на функцию СКК [в более строгой формулировке по И.Л.Черткову (1990) – на функцию КОЕс] проводят путем определения миграции КОЕс из КМ в селезенку методом эндогенного колониеобразования после летального облучения мышей в дозе 8 Гр при экранировании костного мозга задней конечности до уровня 1/2 голени или методом экзогенного клонирования. Возможна оценка числа КОЕс после тотального облучения мышей в дозе 6 Гр. Через 8 сут селезенку извлекают, фиксируют ее в растворе Боуэна и макроскопически подсчитывают число колониеобразующих единиц (КОЕс) [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1972; Till J. E., Mc Culloch E. A., 1961], используя лупу с увеличением в 2 или 4 раза. ТХВ вводят до облучения, практически одновременно с облучением или после него через 1-2 сут.

2.3. Определение лимфоидного индекса тимуса и селезенки

Лимфоидный индекс (ЛИ) тимуса и селезенки характеризует

функциональное состояние данных органов системы иммунитета. В тимус из костного мозга мигрируют протимоциты. Клетки, мигрирующие из костного мозга в тимус, называют также стволовыми кроветворными клетками, клетками предшественниками лимфопоэза, лимфоцитами-прекурсорами [Кемилева З., 1984; Галактионов В.Г., 1986; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Только один процент тимоцитов мигрирует в периферические лимфоидные органы и принимает участие в иммуногенезе, остальные Т-лимфоциты погибают в тимусе по механизму апоптоза, либо уходят из тимуса живыми и разрушаются в печени, селезенке и кишечнике [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Более 95% тимоцитов являются Т-лимфоцитами, остальные клетки относятся к лимфобластам, макрофагам, эпителиальным клеткам, тельцам Гассаля, интердигитатным клеткам [Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д., 1980; Петров Р.В., 1983; Ройт А. и соавт., 2000]. Протимоциты (претимоциты) заселяют кортикальную часть долек вилочковой железы, где пролиферируют, после чего переходят в медуллярную часть, из которой происходит их выход в лимфатические сосуды, путем экстравазации в посткапиллярные венулы или транскапсуллярные артерии [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Селезенка удаляет из кровотока утратившие функциональную активность эритроциты и лейкоциты, а также образует новые лимфоциты в ответ на попавшие из кровотока чужеродные антигены. Лимфоциты заселяют селезенку путем миграции из тимуса и костного мозга Т- и В-клеток [Петров Р.В и соавт., 1981а; Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981б; Ройт А., 1991]. Лимфоидный индекс тимуса и селезенки является косвенным показателем содержания ядросодержаших клеток в этом органе, в частности лимфоцитов, в определенной степени он характеризует процессы апоптоза тимоцитов и миграцию их в циркулирующую кровь [Гольдберг Е.Д. и соавт., 1972; Тихонов В.Н., 1981; Александров В.Н., 1983; Беликов В.Г., 2001; Сидельникова Н.М., 2004]. Кроме того, величина лимфоидного индекса тимуса и селезенки прямо коррелирует с антителопродукцией [Забродский П.Ф., 1998, 2002].

Исследование влияния острой интоксикации ядов общетоксического действия на лимфоидный индекс тимуса и селезенки белых крыс или мышей проводят через 1–8 сут после введения ксенобиотиков. В период от 1 до 2 сут при острых воздействиях ксенобиотиков и экстремальных физических факторов на животных, как правило, происходит максимальное снижение ЛИ тимуса и селезенки [Александров В.Н., 1983; Забродский П.Ф., 1998; 2002; Германчук В.Г., 2000; Descotes J., 1986].

С целью оценки лимфоидного индекса тимуса и селезенки определяют их массу гравиметрическим методом. ЛИ вычисляют общепринятым способом [Гольдберг Е. Д. и соавт., 1972; Тихонов В. Н., 1981, Германчук В.Г., 2000; Беликов В.Г., 2001], путем деления массы органа (в мг) на массу тела (в г) через 1–7 сут после интоксикации ТХВ. Через 7 сут, даже при действии в больших дозах цитостатиков, данный показатель нормализуется [Гольдберг Е. Д. и соавт., 1972]. Данные параметры являются косвенными критериями оценки состояния иммунной системы и могут отражать ее функциональное состояние в целом [Александров В. Н., 1983 Забродский П.Ф., 1998, 2005].

2.4. Оценка содержания лимфоцитов в органах системы иммунитета

Содержание Т-клеток в тимусе крыс или мышей определяют общепринятым методом подсчета ядросодержащих клеток в органе, учитывая, что лимфоциты в вилочковой железе представлены Т-популяцией на 85-90% [Гольдберг Д. И., Гольдберг Е. Д., 1980; Петров Р. В., 1987; Ройт А. и соавт, 2000; Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Лимфоциты в селезенке, лимфатических узлах (для изучения берут паховые лимфоузлы) и костном мозге (исследуют клетки костного мозга бедренной кости) подсчитывают, исходя из их относительного содержания в мазках данного органа, окрашенных по Романовскому–Гимзе. Для определения содержания в лимфоидных органах лимфоцитов клеточные суспензии из тимуса, селезенки, костного мозга и паховых лимфоузлов крыс или мышей готовят после действия токсикантов, как правило, через 1-6 сут. Содержание лейкоцитов и лимфоцитов в крови животных под влиянием ТХВ определяют через 1–6 сут общепринятыми методами [Гембицкий Е.В. и совт., 1987]. В более поздние сроки исследование содержания клеток в органах под влиянием острого действия ядов нецелесообразно в связи с практически полным восстановлением их содержания в органах системы иммунитета к 5–6 сут [Забродский П.Ф.,1991].

2.5. Исследование индукции макрофагами гуморального иммунного ответа

Способность макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа оценивают через 4-5 сут по числу АОК к ЭБ у линейных крыс-реципиентов (или мышей) после введения токсиканта сингенным

животным-донорам. Макрофаги от животных-доноров переносят реципиентам через 1 сут после интоксикации. За 1,5 ч до переноса перитонеальных макрофагов в брюшную полость крысам или мышам вводят $2{,}5 \cdot 10^8$ ЭБ в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия [Argyris B.F., 1967].

2.6. Изучение кооперации Т- и В- лимфоцитов

Кооперацию Т- и В- лимфоцитов исследуют in vivo и in vitro. Методы исследования кооперации Т- и В- лимфоцитов in vivo изложены в монографии [Петров Р. В. и соавт., 1981а].

Исследование взаимодействия Т- и В-клеток in vitro включает получение Т-клеток. Для этого используют метод фильтрования селезеночной суспензии линейных мышей через нейлоновую вату (“Нитрон”) [Ширшев С.В., 1998]. Для выделения В-лимфоцитов применяют реакцию комплементзависимого масс-цитолиза. В качестве цитотоксической сыворотки используют моноклональные антитела против антигенов Т-лимфоцитов мыши. Из суспензии спленоцитов макрофаги удаляют методом негативной селекции, используя их способность прилипать к стеклянной поверхности [Ширшев С.В., 1998]. Жизнеспособность клеток оценивают в тесте с трипановым синим (она должна составлять 90-98%). Инкубируемая по методу J. K. Thomas, T. Imamura [1986] культура содержит 10^6 и $5 \cdot 10^5$ В- и Т-клеток соответственно и 10^7 эритроцитов барана в 0,15 мл среды Хенкса. Антителообразующие клетки (АОК) подсчитывают в инкубационных камерах через 4 сут [Thomas J. K., Imamura T. , 1986]. Данный тест отражает синтез IgM В-клетками селезенки при участии Т-хелперов типа 1 (Th1-лимфоцитов). Роль Т- и В-лимфоцитов в обеспечение антителопродукции определяют также путем сравнения числа АОК после инкубации той или иной популяции лимфоцитов в течение 1–4 ч с различными концентрациями ТХВ ($10^{-9} – 10^{-1}$ М).

2.7. Оценка гуморальных иммунных реакций

Для оценки гуморальных иммунных реакций в качестве антигенов применяли эритроциты барана (ЭБ) и брюшнотифозный Vi-антиген (Vi-Ag).

Использование данных антигенов позволяет рассмотреть влияние токсикантов на Т-зависимый (ЭБ) или Т-независимый (Vi-Ag) иммунный ответ в сравнительном аспекте, а также оценить роль Т-хелперов в реализации гуморального звена иммунного ответа [Утешев Б. С., 1984; Descotes J.,1986]. Данный подход широко используется для

оценки действия химических соединений на систему иммунитета [Плецитый К. Д., 1985; Ройт А, 1991; Забродский П.Ф., 2000, 2006].

Исследование показателей Т-зависимого гуморального иммунного ответа проводят через 5, 8 и 13 суток (могут быть выбраны и другие сроки исследования) после острой интоксикации. Иммунизацию эритроцитами барана проводили путем их внутрибрюшинного введения в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия. Титры антител к ЭБ определяли в реакции гемолиза эритроцитов в присутствии комплемента. Все реакции проводились на стерильных пластиковых микропланшетах. Гуморальный иммунный ответ оценивают по отрицательному двоичному логарифму титра антител (ОДЛТА). Данный тест отражает способность органов системы иммунитета синтезировать IgM через 5 сут и IgG (преимущественно) через 8–14 сут [Ройт А., 1991; Casale G.P. et al., 1983]. Максимальный синтез IgG к ЭБ происходит через 14 сут после иммунизации.

Гуморальную иммунную реакцию к Т-зависимому и Т-независимому антигенам чаще всего оценивают через 4–5 суток после иммунизации по числу АОК в селезенке [Белокрылов Г. А. и соавт., 1980; Jerne N. K., Nordin A. A., 1963] после введения ТХВ с внутрибрюшинной иммунизацией крыс ЭБ в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия и Vi-Ag в дозе 8 мкг/кг (использованный тест отражает синтез IgM В-клетками селезенки). АОК, характеризующие продукцию IgG, определяют в селезенке методом непрямого локального гемолиза в геле [Jerne N. K., Nordin A. A., 1963; Dresser D.W., Wortis H.H., 1965]. Данные литературы позволяют полагать, что данный метод характеризует преимущественно функцию Th2-лимфоцитов, так как Th1-лимфоциты обеспечивают возможность образования в этот период антителогенеза, кроме IgM, также и IgG2a, составляющих не более 20% от всех подклассов IgG [Ройт А. и савт., 2000].

Введение ТХВ проводят практически одновременно с иммунизацией. Кроме того, при исследовании Т-зависимого антителообразования по числу АОК в селезенке ксенобиотики вводят через 1 и 3 сут после иммунизации. При этом одновременное введение токсикантов с ЭБ и через 1 сут после иммунизации позволяет оценить индуктивную фазу гуморального иммунного ответа, а через 3 сут – продуктивную [Забродский П.Ф. и соавт., 2005; Deskotes J., 1986].

2.8. Оценка клеточных иммунных реакций

Исследование функции Т-лимфоцитов

Исследование функции Т-лимфоцитов проводят по реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) периферической крови в присутствии конконавалина А (КонА) или фитогемагглютинина (ФГА). Это один из очень простых, но достаточно информативных тестов. РТМЛ основана на способности сенсибилизированнных Т-лимфоцитов в реакциях с антигеном или митогенами (ФГА, КонА) in vitro выделять биологически активные субстанции – лимфокины, в том числе фактор, ингибирующий миграцию лейкоцитов (один из лимфокинов воспаления) [Фримель Х., Брок Й., 1986].

Для исследования РТМЛ кровь у крыс или мышей забирают из подъязычной вены через 1–6 сут после введения исследуемых ксенобиотиков. В капилляры для определения С-реактивного белка набирают с часового стекла смесь, состоящую из гепаринизированной крови (0,2 мл) исследуемых крыс или мыщей (опыт и контроль) и раствора КонА (0,5 мл). Концентрация митогена в растворе должна составлять 10-100 мкг/мл. Капилляры запаивают с одного конца парафином и центрифугируют 5 мин при 1500 об/мин, затем в вертикальном положении их инкубируют 24 ч в термостате при температуре 37 ^{0}С. Учет реакции проводят путем измерения длины зоны миграции основной массы лейкоцитов от границы эритроцитарного осадка в контроле и опыте [Гембицкий Е.В. и соавт., 1987]. Величина миграции лейкоцитов обратно пропорциональна активности Т-клеток.

Изучение формирования гиперчувствительности замедленного типа

Для оценки влияния ксенобиотиков на формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у крыс или мышей используют модель данной реакции, в которой не применяется перенос сингенных иммуноцитов, и адоптивные модели (связанные с переносом клеток; to adopt –принимать, усваивать, присваивать). ГЗТ оценивают после иммунизации внутривенным введением $2{\cdot}10^8$ эритроцитов барана (ЭБ) в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия одновременно с применением ксенобиотиков. Разрешающую

(вызывающую реакцию) дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$ в 0,05 мл изотонического раствора хлорида натрия) вводят под апоневроз задней лапы крысы через 4 сут после иммунизации. Оценку реакции осуществляют через 24 ч (можно проводить оценку через 6 – 48 ч) по приросту массы стопы задней лапы крыс по сравнению с контрольной – контрлатеральной [Брюхин Г.В. и соавт.,1990]. Ксенобиотики вводят одновременно с иммунизацией или через 1–4 после нее. Данный тест отражает функцию Th1-лимфоцитов и способность их к продукции TGF_{β}, ИЛ-3, γ-интерферона, ИЛ-12, β-фактора некроза опухоли - лимфотоксина и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) [Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Ройт А. и соавт., 2002].

Локальную адоптивную ГЗТ оценивают у линейных крыс-реципиентов (мышей) после введения им под апоневроз стопы смеси ЭБ ($5 \cdot 10^8$) и спленоцитов ($4 \cdot 10^8$) от сингенных интактных животных (отрицательный контроль), животных, иммунизированных 10^8 ЭБ (положительный контроль) и спленоцитов крыс или мышей, получавших ксенобиотик (опытная серия). Селезенку для получения клеток извлекают у доноров через 4 сут после иммунизации. Опытной группе за 1 сут до извлечения селезенки вводят ксенобиотик (опытная серия). Суспензию спленоцитов готовят на среде № 199.

При исследовании формирования ГЗТ у линейных крыс-реципиентов (мышей) после переноса им спленоцитов ($5 \cdot 10^8$) от иммунизированных 10^8 ЭБ сингенных доноров, реципиентов через 1 ч сенсибилизируют внутривенным введением 10^8 ЭБ. Через 4 сут под апоневроз стопы реципиентов вводят разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) с последующей оценкой реакции через 24 ч. Спленоциты получают через 5 сут после иммунизации доноров. Ксенобиотик вводят реципиентам через 30 мин после иммунизации. В данном эксперименте формирование ГЗТ отражало влияние ксенобиотика на вторичный иммунный ответ в модели адоптивной реакции, связанной с переносом иммунных спленоцитов животным-реципиентам

Исследование формирования ГЗТ у крыс при переносе супрессорных клеток проводят аналогично описанному опыту. Влияние ТХВ на формирование спленоцитов-супрессоров исследуют путем практически одновременного введения токсиканта и ЭБ в толерогенной дозе (вызывающей значительное снижение или полное отсутствие иммунной реакции на антиген) крысам-донорам [Фролов и соавт., 1985; Забродский П.Ф., Мышкина А.К., 1990; Германчук В.Г, 2000].

Исследование активности естественных клеток-киллеров

Оценку активности естественных клеток-киллеров проводят по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) спектрометрическим (нерадиометрическим) методом Гордиенко С. М., 1983, 1984], где клетками-эффекторами служили спленоциты крыс, а клетками-мишенями – эритроциты кур (ЭК) [Белокрылов Г. А. и соавт., 1980]. Очищенную взвесь лимфоцитов получают, удаляя прилипающие клетки инкубацией в колонках с нейлоновой ватой. Эффекторные клетки взвешивают в концентрации 10^7 клеток в 1 мл питательной среды следующего состава: среда № 199 с добавлением до 10% истощенной ЭК эмбриональной телячьей сыворотки, L-глютамина (300 мкг/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и пенициллина (100 Ед/мл). В ходе опыта обеспечивали соотношение эффектор - мишень 10:1, при этом концентрация клеток-мишеней (ЭК) составляла 10^6 в 1 мл питательной среды. Цитотоксический тест ставят в пластиковых камерах «Linbro» (76-013-05) с круглым дном. Результаты реакции учитывают по спектрофотометрическому определению концентрации гемоглобина, выделившегося из неразрушенных ЭК. В опытные лунки добавляли по 0,1 мл взвеси эффекторных клеток и по 0,1 мл взвеси ЭК. Проводят 3 контроля: эффекторные клетки в питательной среде без ЭК; питательная среда; взвесь ЭК в питательной среде без эффекторов. В конце инкубации содержимое лунок осторожно ресуспендируют и камеры центрифугировали 5 мин при 100g. 0,2 мл надосадка переносят в другие свободные ряды микропластины, а к осадку приливают 0,2 мл 0,25% раствора додецилсульфата натрия (ДСН) для лизиса ЭК, оставшихся неразрушенными в ходе цитотоксической реакции. Оптическую плотность осадков измеряют в специально изготовленных микрокюветах с длиной оптического пути 1 см и объемом 0,1 мл на спектрофотометре при длине волны 413 нм. Определяли количество гемоглобина, выделившегося из неразрушенных ЕКК ЭК, путем лизиса осадка 0,25% ДСН. Индекс цитотоксичности (ИЦ) определяли по формуле:

$$\text{ИЦ} = \frac{E_к - E_о}{E_к} \times 100,$$

где $\mathbf{E_к}$ - оптическая плотность лизированного осадка ЭК контроль

ной пробы без эффекторов против лизирующего раствора;

E_o - оптическая плотность лизированных оставшихся в осадке опытной пробы неразрушенных ЭК против лизированного осадка эффекторных клеток без ЭК.

Естественную цитотоксичность in vitro определяют спектрофотометрически описанным методом после инкубации клеток-эффекторов, получаемых из спленоцитов крыс, в течение 4 ч в среде 199 с содержанием токсикантов в концентрациях 1, 10, 100 и 1000 мМ. В ходе опыта обеспечивается соотношение эффектор-мишень 10:1 (или 25:1, 50:1). Результаты реакции учитывают по спектрофотометрическому определению концентрации гемоглобина, выделившегося из неразрушенных ЭК.

Кроме того, существует радиометрический метод оценки активности ЕКК с использованием ^{51}Cr. Результат учитывают по высвобождению ^{51}Cr из меченых клеток определенных опухолей [Ройт А. и соавт., 2000]

Исследование антителозависимой клеточной цитотоксичности

В настоящее время доказано, что К-клетки, реализующие антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ), – это ЕКК, использующие для усиления реакции антитела (IgG) [Ройт А., 1991; Хаитов Р. М. и соавт., 2002]) Антителозависимую клеточную цитотоксичность определяют спектрофотометрически по методу Ю. И. Зимина, В. Ф. Ляхова (1985), через 5 сут после иммунизации эритроцитами барана (или без иммунизации), через различные сроки после введения ксенобиотика. Животных иммунизируют ЭБ ($5{\cdot}10^8$ клеток в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия внутрибрюшинно или внутривенно). АЗКЦ оценивают в различных органах системы иммунитета через 5 сут после иммунизации.

Существует и радиометрический метод оценки АЗКЦ с использованием ^{51}Cr. Результат учитывают по высвобождению ^{51}Cr из меченых клеток определенных опухолей [Ройт А. и соавт., 2000].

2.9. Оценка активности ацетилхолинэстеразы в Т-клетках

Для определения активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т-клетках тимуса и селезенки используют метод выделения популяции Т-лимфоцитов с максимальной активностью АХЭ из ядросодержащих клеток органов в градиенте плотности перколла (удельная плотность

составляла 1,065). Клетки отмывают в 0,1 молярном фосфатном буфере (pH–8,0) и подсчитывают содержание лимфоцитов в суспензии. Выделенные таким образом клетки составляют около 80% Т-лимфоцитов «низкой плотности», характеризуются высокой активностью АХЭ [Szelenyi J.G., et al., 1982]. Активность АХЭ определяют по методу [Ellman G.M., et al.., 1961]. К 1,5 мл суспензии, содержащей $1\text{-}5\cdot10^8$ клеток в 1 мл 0,1 молярного фосфатного буфера (pH –8,0), добавляли 20 мкл 0,075 моль ацетилхолина иодида и 50 мкл 0,01 моль дитио-бис-нитробензойной кислоты. После 20 мин инкубации при 25^0 С реакцию останавливают добавлением 100 мкл 1,5–дифтор-2,4-динитробензола и регистрируют увеличение оптической плотности спектрофотометрически (420 нм) [Szelenyi J.G., et al., 1982]. За единицу активности АХЭ (Ед) принимают мкмоль ацетилхолина, гидролизованного за 1 мин в мл суспензии, содержащей 10^9 Т-лимфоцитов [Kutty K. M. et al., 1976]. Учитывая зависимость антителогенеза от перераспределения иммунокомпетентных клеток между лимфоидными органами [Maslinski W. K et al., 1987; Tiefenbach B., Wichner S., 1985], подсчитывают число ядросодержащих клеток в тимусе и селезенке после их выделения из органов в среду № 199 путем подсчета в камере Горяева через 4 сут (могут быть, в зависимости от задачи исследования, выбраны и иные сроки) после иммунизации (через 1 и 2 сут после введения последней дозы АХ и холинотропных веществ соответственно). Число Т- и В-лимфоцитов в тимусе и селезенке определяют по методике [Thomas I.K., Imamura T., 1986], а активность АХЭ – по описанному методу [Ellman G.M., et al.., 1961, Szelenyi J.G., et al., 1982].

2.10. Определение показателей ПОЛ, концентрации кортикостерона и катехоламинов в крови

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по суммарной продукции радикалов методом люминолзависимой хемилюминесценции, активированной форболовым эфиром (0,156 МКм) [Takayama F. et al, 1998] по содержанию малонового диальдегида [Коробейникова Э.Н., 1989], активности каталазы и пероксидазы в крови спектрофотометрически [Валеева И.Х. и соавт., 2002] через различные сроки после применения токсикантов. При этом активность каталазы и пероксидазы являлась показателем функции антиоксидантной системы (АОС).

Для определения уровня кортикостерона в плазме крови крыс используется флюорометрический метод определения уровня неконъюгированных 11-оксикетостероидов [Moor P. de et al., 1962; 1976] через 1 – 24 ч после интоксикации ксенобиотиками.

Экстракция кортикостерона из анализируемых образцов плазмы крови проводится четыреххлористым углеродом. Для удаления пигментов плазмы и нестероидных соединений экстракты промывают с помощью 0,1% раствора NaOH и дистиллированной воды. Затем верхний слой, включающий в себя кортикостерон, переносится, выпаривается и повторно экстрагируется 6 мл метиленхлорида или хлороформа. Для образования флюоресцентных комплексов используется смесь концентрированной серной кислоты и этанола в соотношении 3:1. После развития флюоресценции растворы исследуют на флюориметре с использованием интерферентных фильтров: первичного с пропусканием волн длиной 470 нм и вторичного – 540 нм.

Содержание адреналина и норадреналина определяют в плазме крови животных по методу Э.Ш. Матлиной (1965). Этот метод является весьма трудоемким и устаревшим.

В настоящее время определение катехоламинов в тканях лабораторных животных проводят, используя радиометрический метод в сочетании тонкослойной хроматографии [Ткачева Г.А. и соавт., 1983].

ГЛАВА 3. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ КСЕНОБИОТИКОВ

3.1. Основные механизмы иммунотоксичности

Возможности реализовать иммунотоксический (иммунотропный) эффект у ксенобиотиков весьма разнообразны. При рассмотрении влияния ТХВ и фармакологических средств на доиммунные механизмы защиты (ДИМЗ) и иммунную систему (ИС) на уровне организма необходимо отметить тесную связь действия токсикантов или лекарственных средств на эти системы с функцией центральной нервной системы (ЦНС) и эндокринной системы (ЭС). Таким образом, опосредованное влияние ТХВ через ЦНС и ЭС сочетается с прямым действием ксенобиотиков на показатели НРО, морфологические и функциональные системы ИС [Априкян В.С., Галоян К.А., 1995; Абрамов В.В., 1996; Ройт А. и соавт. 2000; Забродский П.Ф., 2000; Хаитов Р.М. и соавт. 2002; Miller K. 1985; , Andrian U.H., 2000, Maekawa Y., 2005]. Взаимосвязь ЦНС, ЭС, ДИМЗ и ИС в реализации иммунотропных эффектов может быть представлена прямыми и обратными связями между этими системами.

Возможны следующие варианты воздействия ТХВ на иммунокомпетентные клетки [Spreafico F., Vecchi A., 1984; Descotes G., 1986; Luster M. J. et al., 1987; Sullivan J. B., 1989 Забродский П.Ф., 2000]: воздействие через ЦНС и эндокринную систему, в частности, вследствие реализации эффектов различных медиаторов (ацетилхолина, катехоламинов, нейропептидов и т.п.), а также действия гормонов гипофиза, надпочечников, щитовидной железы и других эндокринных органов; прямое воздействие токсиканта на иммунитет; действие метаболитов, в результате биотрансформации ТХВ в печени (легких, коже, лимфоцитах); иммунотропное действие ТХВ в качестве антигена; взаимодействие токсиканта, являющегося гаптеном, с белками с образованием комплекса, который действует на ИКК как антиген; действие ТХВ в качестве толерогена (при этом токсикант отменяет или снижает реализацию гуморальных или клеточных иммунных реакций).

Анализ данных литературы свидетельствуют о том, что иммунотоксичность различных ядов на субклеточном уровне определяется их способностью оказывать влияние на систему иммунитета путем инициации токсикантом перекисного окисления липидов мембран клеток. В частности, вследствие инактивации

антиоксидантных ферментов и витаминов (супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, глютатионтрансферазы, глютатион-пероксидазы, α-токоферола, β-каротина, витаминов Е, А, С и др.).

Механизмы токсичности диоксинов и дибензфуранов обусловлены соединением ядов с Ah-рецептором цитозоля мембраны иммуноцита, последующим поступлением в ядро клетки и взаимодействием с ДНК. Токсичность ксенобиотиков может быть обусловлена реализацией эффектов медиаторов и гормонов, к большинству из которых на мембране ИКК имеются соответствующие рецепторы, вследствие действия токсикантов на ЦНС и эндокринную систему [Корнева Е.А., 1990; Забродский П.Ф., 1993; 2002; Szot R.J., Murphy S.D., 1970].

Иммунотоксичность ряда ТХВ обусловлена инактививацией ферментов цитозоля и мембраны ИКК (ацетилхолинэстеразы, α-нафтил-AS-ацетатэстеразы, α-нафтилбутират-эстеразы, коферментов пируватоксидазной системы и др.), а также энзимов системы тканевого дыхания в митохондриях иммуноцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 2001; Becker E.Z. et al., 1976; Хейхоу Ф.Г.Дж, Кваглино Д., 1983], индукцией или ингибированием синтеза Р-450-зависимых монооксигеназ, локализованных преимущественно в естественных клетках-киллерах и Т-лимфоцитах.

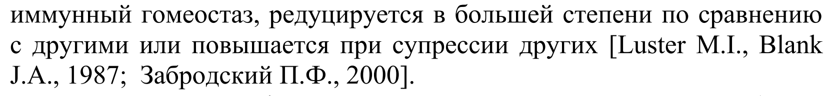
Токсиканты повреждают ДНК, РНК, а также органеллы иммунокомпетентной клетки, в частности структуры эндоплазматического ретикулума, лизосом и рибосом, а также мембрану ИКК с последующим образованием аутоантител, взаимодействующих с иммуноцитом [Забродский П.Ф., 1998, 2002; Смирнов В.С., Петленко С.В., Сосюкин А.Е., 2000; Descotes J., 1986; Van Loveren. H. et al., 1990]. В реализации иммунотоксических эффектов имеют значение изменение углеводно-энергетического и нуклеинового обмена [Петрусенко Г.П., Тумилович М.К., 2004], разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфоририрования, повреждение мебран ИКК и их органелл и другие механизмы [Алимова М. Т. и соавт,. 1991; Гущин Н.В. и соавт. 1991, Хусинов А.А. и соавт., 1991; Абрамов В.В., 1996; Смирнов В.С. и соавт., 2000; Ройт А. и соавт. 2000; Забродский П.Ф., 2000; Хаитов Р.М. и соавт. 2002; Rodica G., Srefania M.,1973; Street J.C., Sharma R.P., 1975; Trinchievi G., M. de Marchi, 1976; Wiltrowt R.W. et al., 1978; Casale G.P. et al., 1984; Devens B.H. et al., 1985; Loose L.D., 1985; Miller K., 1985; Descotes G., 1986; Thomas I.K., Imamura T., 1986; Luster M. J. et al., 1987; Rodgers K.E. et al., 1987; Sullivan J. B., 1989; Zhang P. et al., 2002].

В процессе иммуногенеза ТХВ могут оказывать воздействие на различные клетки крови, ИКК и их предшественники вплоть до полипотентной стволовой кроветворной клетки (ПСКК). Возможными мишенями для действия токсикантов могут являться [Кульберг А.Я., 1986; Ройт А. и соавт. 1991; 2000; Забродский П.Ф., 2000; Хаитов Р.М. и соавт. 2002; Loose L.D., 1985; Miller K., 1985; Descotes G., 1986; Luster M. J. et al., 1987; Sullivan J. B., 1989; Ellmeier W., 1999, Klein J., 2000, Benito J.M., 2004, Parham P., 2005]: клетки эритроидного ростка кроветворения (эритробласты, незрелые эритроциты, эритроциты), клетки миелоидного ряда кроветворения (клетка-предшественник нейтрофилов и моноцитов, клетка- предшественник эозинофилов и базофилов, гранулоциты, моноциты), клетки лимфоидного ряда кроветворения (протимоцит, тимоцит; Т-клетки, предшественник B_2-лимфоцита, B_2-лимфоцит и плазматическая клетка, естественный киллер, DC_2 – лимфоидная дендритная клетка, DC_2 – интердигитальная клетка в тимусе и лимфоузлах, DC_2 – клетка Лангерганса в коже), клетки мегакариоцитоиного ростка кроветворения (мегакариобласты, тромбоциты), клетки-предшественники B_1 – лимфоцитов (B_1 – лимфоцит).

ТХВ могут воздействовать на процесс взаимодействия антигенпредставляющих клеток (кортикальных эпителиальных клеток тимуса, макрофагов, дендритных клеток) с Т- и В-лимфоцитами. В результате возможно нарушение Т-зависимого антителообразования В-клетками (синтеза иммуноглобулинов M, G, A, D, E). ТХВ могут воздействовать и на В-клетки, синтезирующие IgM, без участия Т-лимфоцитов, а также на лимфокины и процессы их взаимодействия с рецепторами ИКК [Забродский П.Ф., 2000; Descotes G., 1986; Luster M. J. et al., 1987; Sullivan J. B., 1989; Ellmeier W., 1999, Klein J., 2000, Benito J.M., 2004].

Действие ТХВ на механизмы реализации клеточного иммунитета, осуществляемое цитотоксическими Т-лимфоцитами (Т-киллерами), многообразно и может быть реализовано путем повреждения Т-эффектора, с нарушением синтеза им цитокинов, структуры цитокиновых рецепторов, нарушения процесса взаимодействия Т-киллера с мембраной клетки-мишени (с молекулами главного комплекса гистосовместимости класса I, ассоциированными с антигеном. В настоящее время они изучены недостаточно [Забродский П.Ф., 2005].

Как правило, ТХВ угнетают в той или иной степени НРО, ГИ и КИ. Возможны варианты, когда один из компонентов, обеспечивающих



иммунный гомеостаз, редуцируется в большей степени по сравнению с другими или повышается при супрессии других [Luster M.I., Blank J.A., 1987; Забродский П.Ф., 2000].

В 1983 году G.Harris предположил, что причиной вторичных (в том числе постинтоксикационных) иммунодефицитных состояний может быть повреждение структуры ДНК лимфоцитов и/или процессов репарации ДНК под влиянием эндогенных метаболитов или лекарств, а нарушения функционирования ИКК могут быть обусловлены неполноценностью процессов реанжировки генов иммуноглобулинов, так как в этих процессах участвуют те же ферменты, что и в репарации ДНК.

Иммунотоксичность ТХВ может рассматриваться на различных уровнях интеграции организма: систем и органов, клеточном, субклеточном и молекулярном. Кроме того, необходимо учитывать, что реализация иммунотропных эффектов токсикантов происходит на различных стадиях иммуногенеза, а также в процессе кооперации клеток при индуцировании гуморальных или клеточных иммунных реакций. В зависимости от изменения НРО, КИ или ГИ могут быть выделены различные типы нарушений иммунного гомеостаза.

3.2. Общая характеристика нарушения иммунного гомеостаза под влиянием токсикантов

Данные о влиянии различных токсикантов на доиммунные механизмы защиты (неспецифическую резистентность организма – НРО) и иммунный статус в настоящее время весьма обширны и противоречивы [Шубик В. М., 1976; Лазарева Д. Н., Алехин Е. К., 1985; Смирнов В.С. и соавт., 2000; Забродский П.Ф., 1998, 2002, 2004а; Descotes J., 1986; Luster M.J. at el., 1987]. Анализ иммунотоксических эффектов токсичных химических веществ (ТХВ) обусловлен необходимостью выявления наиболее чувствительных параметров НРО и системы иммунитета к тем или иным ядам и для обоснования применения адекватных характеру нарушений иммунного гомеостаза различными токсикантами иммуностимуляторов.

За несколько последних десятилетий данные, полученные о влиянии токсичных химических веществ (ТХВ) на доиммунные механизмы защиты, в целом определенно свидетельствуют о возможности снижения неспецифических факторов защиты организма при их остром действии [Смирнов В.С. и соавт., 2000; Забродский

П.Ф., 2002; Василенко О.А., 2004; Петрусенко Г.П., Тумилович М.К., 2004]. Так, доказано уменьшение бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК), лизоцимной, комплементарной и фагоцитарной активности, а также других неспецифических факторов резистентности организма при хроническом воздействии сернистого ангидрида и фенола [Космодамианская Д. М., 1968], акролеина, окиси углерода [Стрельникова Л. А., Раткина В. Г.,1983], неорганических соединений фтора [Андронова М. Н. и соавт., 1988], стирола [Казакова В. В., 1971], севина, хлорофоса и ДДТ [Фридман Г.И., 1970], дихлорэтана [Забродский П.Ф. и соавт., 1997]. Исследователи вполне закономерно связывают снижение НРО с повышением уровня заболеваемости различными инфекциями [Luster M.J. at el., 1987; Лужников Е.А., Костомарова Л.А., 2000]. Не исключено, что острое действие некоторых ТХВ может увеличивать НРО. Так, подобный эффект обнаружен при длительной интоксикации крыс малыми дозами гербицида симазана [Барштейн Ю. А. В. и соавт., 1991].

Имеющая исключительно важное значение в реализации доиммунных механизмов защиты (НРО) и многочисленных иммунных реакциях моноцитарно-макрофагальная система (ММС) подвержена отрицательному действию большого числа ТХВ. К ним относятся полигалогенизированные ароматические углеводороды [Bleavins M. R., Aulerich R. J.,1983], метилизоцианат [Dwivedi P. D. et al.,1988], инсектицид токсафен [Allen A. L. Et al.,1983], сероводород, аммиак [Дьячук И. А., 1979], различные инсектициды [Золотникова Г. П.,1980], анилин [Саноцкий И. В. ,1969], гербицид 2,4-Д [Жамсаранова С. Д. и соавт., 1988], свинец [Bagiuski B., 1985], двуокись кремния [Gennari M. et al., 1987], трихлорэтан [Sauders V.M. et at., 1985], трихлорэтилен, хлор, хлорфенол [Descotes J., 1986], оксид бутилолова [Vos J.G. et al., 1984], роданистый аммоний и тиомочевина [Савченко М.В., 1987], ацетонитрил [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., 1998] и другие вещества. Нарушение функции макрофагов легких вызывают оксиды свинца, никеля, ванадия, диоксиды ртути, марганца, азота, хлориды кадмия и никеля [Sullivan J. B., 1989]. Активность нейтрофилов при хронической интоксикации снижают многие пестициды, ароматические, хлорированные и фторсодержащие углеводороды, бензин, свинец, ртуть, бериллий, сероуглерод, формальдегид [Шубик В. М., 1976]. Как правило, угнетение функции моноцитарно-макрофагальной системы сопровождается Т- и В-иммунодефицитными состояниями. Нарушение фагоцитоза может происходить вследствие действия ТХВ на процессы хемотаксиса, адгезии, активации мембраны фагоцита,

образования фагосомы, слияния лизосомальных гранул с фагосомой, уничтожения чужеродных клеток при помощи кислородзависимых или кислороднезависимых механизмов.

Снижение НРО под влиянием фосфорорганических инсектицидов (ФОИ) описано в многочисленных работах [Золотникова Г.П., 1980; Перелыгин В.М. и соав., 1971; Жамсаранова С.Д. и соавт., 1988; Пирцхалава А.В., 1989; Шведов В. Л., Анисимова Г. Г., 1989; Чугунихина Н.В., Хасанова М.И. , 1994; Woodin A.M., Wieneke A.A., 1969; Woodin A.M., Harris A.,1973; Taurog J.D.,et al., 1979; Hermanowicz A., Kossman S., 1984; Kossman S. , et al., 1985]. Ряд химических соединений способен активировать фагоцитоз в определенные периоды хронической интоксикации или при действии относительно небольших доз (концентраций). Такими свойствами обладают хлорид марганца [Smialowicz R.J. et al., 1985], некоторые пестициды в начальном периоде интоксикации, метилмеркаптан и нитроаминосоединения [Шубик В. М. , 1976]. В отношении действия кадмия данные литературы противоречивы. Исследователи описывают и стимуляцию фагоцитоза под влиянием этого металла [Thomas P. T. et al., 1985], и его супрессию [Bagiuski B., 1985]. Дильдрин оказывает активирующее влияние на нейтрофилы крыс [Hewett J. A., Roth R. A., 1988], севин и метафос увеличивают миграционную активность макрофагов [Долинская С. И. И соавт., 1989]. Установлено увеличение фагоцитарной активности под влиянием ДДТ и севина с последующим снижением данного показателя через 2-3 месяца с момента начала хронической интоксикации [Miller K., 1985]. Активацию макрофагов вызывает у мышей бенз(а)пирен в дозе 40 мг/кг [Blanton R. H. et al., 1986].

Большое значение в нарушении иммунного гомеостаза имеет поражение ТХВ естественных клеток-киллеров (ЕКК), так как именно данные лимфоциты осуществляют защиту от различных микроорганизмов до включения основных иммунных реакций. Известно, что нетоксичные концентрации цинка снижают активность ЕКК в 6-20 раз [Ferry F., Donner M., 1984]. Аналогичным свойством обладают хлорид никеля [Smialowicz R. J. et al., 1984], растворители пропиленгликоль [Denning D. W. et al., 1987] и этиленгликоль [Забродский П. Ф., Германчук В.Г., 2000], оксид бутилолова [Vos J.G. et al., 1984]. В то же время, некоторые химические вещества увеличивают активность ЕКК. Так, хлорид марганца повышает естественную цитотоксичность у мышей при однократном введении в дозах 10-160 мг/кг вследствие возрастания уровня сывороточного

интерферона [Smialowicz R. J. et al., 1984].

Ароматические углеводороды [Moszczynsky P., Lisiewicz J., 1984], полихлорированные дибензфураны [Hideaki K. et al., 1987], метилизоцианат [Johnson K. W. et al., 1986; Saxena A. K. et al., 1988], гексахлорбензол [Van Loveren. H. et al., 1990], гербицид толуин [Николаев А. И. И соавт., 1988], соли никеля [Smialowicz R. J. et al., 1984], акрилаты и нитрилы [Шустов В. Я. и соавт., 1987; Забродский П. Ф., Киричук В. Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000], атропиноподобные соединения [Адо А.Д. и соавт., 1985а; 1985б, 1985в, 1985г, 1987, 1995; MacManus J.P. et al., 1975] и большинство пестицидов [Павлов А.В. и соавт., 1991] поражают преимущественно зависимое от Т-клеток звено иммунной системы. Фосфорорганические соединения в основном вследствие блокирования эстераз, локализованных в Т-лимфоцитах, поражают в большей степени Т-зависимое антителообразование, функцию цитотоксических Т-лимфоцитов и иммунные реакции, связанные с функцией Th1- и Th2- лимфоцитов [Забродский П.Ф.и соавт., 1993, 2001; Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д, 1983; Ferluga J. et al., 1972; Newcombe D.S., 1991].

Данные литературы позволяют считать, что снижение НРО и показателей иммунной системы под влиянием ФОИ, свинца, аммония и их соединений могут быть обусловлены нарушением функции нейрогуморальных механизмов [Корнева Е.А., 1990; Петрусенко Г.П., Тумилович М.К., 2004], увеличением в плазме крови гормонов гипофиза, глюкокортикоидов и биогенных аминов [Кузьминская У.А. и соавт., 1980; Забродский П.Ф., 1993; Szot R.J., Murphy S.D., 1970], действием ацетилхолина на холинорецепторы нейтрофилов [Dulis B.H. et al., 1979], изменением в клетках крови содержания циклических нуклеотидов [Henson P.M., Oades Z.G., 1976], ингибированием эстераз Т-клеток, нейтрофилов и моноцитов [Забродский П.Ф., 1993; Забродский П.Ф. и соавт., 2001; Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983] и системы комплемента [Becker E.Z. et al., 1956, 1964, 1966, 1967, 1971, 1976]. В результате реализации данных механизмов может происходить снижение гуморального иммунного ответа и супрессия клеточных иммунных реакций [Алексеев В.И и соавт., 1981; Иванов В.В., 1986; Федоров С.М. и соавт., 1988; Алимова М. Т. и соавт,. 1991; Гущин Н.В. и соавт. 1991, Хусинов А.А. и соавт., 1991; Rodica G., Srefania M.,1973; Street J.C. и Sharma R.P., 1975; Trinchievi G., M. de Marchi, 1976; Wietrowt R.W. et al., 1978; Tiefenbach B., Lange P., 1980; Casale G.P. et al., 1983, 1984; Devens B.H. et al., 1985; Thomas I.K., Imamura T., 1986; Rodgers K.E. et al., 1985a, 1985б, 1985в, 1986a,

1986б, 1986в, 1987].

К ксенобиотикам, подавляющим преимущественно В-систему иммунитета, относятся: хлорорганический инсектицид токсафен [Allen A. L. et al., 1983], трихлорэтан [Sauders V. M. et al., 1985], свинец [Jaremin B. et al., 1983], трихлорэтилен, монохлорамин, бромхлорметан, трибромметан [Koller L. D., 1987], хлорид бериллия [Yoshiyuki M. et al., 1984], перхлорат натрия [Weetman A. P. et al., 1984], диметилнитрозамин [Luster M. J., 1987].

В ряде случаев установлено, что действие фосфорорганических соединений (ФОС), особенно в малых дозах, может не вызывать снижения антителообразования [Koller L.D. et al., 1976; Tiefenbach B ., Wichner S., 1985; Desi I. et al., 1986] и даже увеличивать антителопродукцию к брюшнотифозному О- и Vi-антигену [Шафеев М.Ш.,1976], повышать синтез IgM и IgG [Kossman S. et al., 1985], IgG и IgA [Ананченко В.Г. и соавт. 1987; Решетова Н.В. и соавт., 1987]. Противоречивость данных в отношении влияния ФОС на В-систему иммунитета у людей и животных может быть обусловлена особенностями токсикодинамики и токсикокинетики, определяющих иммунотоксичность этих соединений [Lee T.P. et al., 1979; Audre F. et al. 1983], проведением экспериментов в различное время суток, характеризующихся различной концентраций в плазме крови кортикостероидов [Иванова С.С., 1998; Dhabhar F. S. et al., 1996] и другими причинами, в частности, характером изменения внутриклеточного содержания цГМФ под влиянием ацетилхолина [Денисенко П.П., 1980; Абрамов В.В. и соавт., 1986; Калинкович А.Г. и соавт., 1988; Garoroy M.R. et al., 1975; MacManus J.P. et al., 1975].

К группе токсикантов, вызывающие комбинированные нарушения функции Т- и В-систем иммунитета, относится большое число ксенобиотиков, нарушающих как гуморальные, так и клеточные иммунные реакции: хлорорганические пестициды и карбаматы, фосфорорганические соединения, диоксид азота и озон, полигалогенизированные ароматические углеводороды, в частност, диоксин, полихлорированные дифенилы и другие соединения. Пожалуй, нет ТХВ, способного поражать только факторы НРО, Т- или В-систему иммунитета вследствие их тесной взаимосвязи [Забродский П.Ф., 2002, 2005]. Токсичные вещества оказывают разнонаправленное воздействие неодинаковой интенсивности на разные звенья иммунной системы. Следует принимать во внимание, что данные различных авторов в отношении иммунотропных свойств ТХВ весьма противоречивы.

Патогенез одновременного поражения Т- и В-систем иммунитета может быть связан, в основном, с нарушением следующих процессов: дифференцировкой полипотентных стволовых кроветворных клеток; созреванием клеток–предшественников Т- и В-лимфоцитов; распознаванием иммуноцитами антигена, активацией пролиферацией, дифференцировкой и регуляцией функции иммунокомпетентных клеток; миграцией лимфоцитов из костного мозга и перераспределением их между органами иммунной системы; продукцией лимфокинов Т-хелперами и другими клетками; цитотоксической функции Т-клеток и синтезом антител плазматическими клетками. Реализация этих механизмов обеспечивается антимитотическим действием ТХВ, а также, как уже отмечалось, инициацией перекисного окисления липидов мембран иммуноцитов, инактивацией энзимов, нарушением нейроэндокринной регуляции иммунологических процессов и другими эффектами [Забродский П.Ф., 2002].

Таким образом, в настоящее время условно по своим основным иммунотоксическим свойствам выделяют следующие ТХВ: поражающие преимущественно Т- или В-систему иммунитета; снижающие активность ЕКК; подавляющие функцию моноцитарно-макрофагальной системы; разнонаправленно влияющие на Т- и В-звено иммунитета. Большинство токсичных веществ в той или иной степени действуют как на Т- и (или) В-систему иммунитета, так и на моноцитарно-макрофагальную систему и другие факторы, определяющие доиммунные механизмы защиты. В зависимости от характера дисфункции системы иммунитета при действии токсикантов для профилактики и лечения инфекционных, онкологических и других связанных с иммунодефицитными состояниями заболеваний могут использоваться соответствующие иммуностимуляторы.

3.3. Иммуносупрессивные свойства фармакологических препаратов

Рассматривая иммунотропные свойства ТХВ, целесообразно расссмотреть иммуномодулирующие эффекты фармакологических препаратов, не относящихся к эндогенным биологически активным соединениям [Descotes J.. 1986], свойства которых и полная библиография приведены в монографии П.Ф. Забродского (1998).

Практически все лекарственные средства в зависимости от дозы, способов применения и т.п. могут проявлять как

иммуносупрессивные, так и иммуностимулирующие свойства. Следует отметить, что ряд веществ в одних и тех же дозах (концентрациях), угнетая одни иммунные реакции, может активировать другие.

Одной из групп соединений, относящихся к иммуномодуляторам, являются вещества, обладающие иммуносупрессивными свойствами (имму-нодепрессанты). Способность к снижению иммунного ответа достигается при этом неспецифическим воздействием на иммунную систему. Эта группа соединений довольно обширна и включает такие вещества, как циклоспорин А, циклофосфамид, азотиоприн, иносиплекс, синтетические полирибонуклеотиды и др [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Из иммуносупрессантов в клинике наиболее широко используются кортикостероиды. Эффект их связан с диффузией через клеточную мембрану, взаимодействием с цитоплазматическими стероидными рецепторами. Возникающие при этом конформационные изменения служат сигналом для специфической стимуляции синтеза белков через ядерную ДНК и РНК и рибосомы. В результате повышается активность ферментов, стабилизируются внутренние структуры и мембраны. Установлено, что в зависимости от дозы дексаметазона может происходить либо стимуляция продукции ИЛ-2, либо его полное подавление. Глюкокортикоиды действуют как на эфферентную (фагоцитоз, переработка антигена), так и на афферентную фазу иммуногенеза. Существенное значение в их иммуносупрессивном действии имеет изменение под их влиянием миграции иммунокомпетентных клеток, их пролиферации, снижение выработки лимфокинов, цитотоксичности, повышение супрессорной активности, ингибирование митоген- и аллоантигениндуцированной пролиферации Т-клеток посредством первичного угнетения экспрессии цитокинов.

Установлено, что кортизол (10^{-8}-10^{-5} М) in vitro приводил к значительному снижению активности естественных клеток-киллеров. При этом величина супрессии находилась в прямой зависимости от концентрации стероидов. При сочетании кортизола с простагландином Е2 отмечался аддитивный эффект. В опытах in vivo и in vitro дексаметазон, тестостерон, метандростенолон дозозависимо подавляли фитогемагглютинин-стимулированную реакцию бластной трансформации лимфоцитов мышей линии C57Bl/6. Глюкокортикоиды и катехоламины (отдельно или в комплексе) могут влиять на иммунную систему в физиологических и

патофизиологических условиях, увеличивая запрограммированную гибель тимоцитов некоторых субпопуляций и уменьшая таким образом размер тимуса. Следует отметить, что относительно невысокие концентрации кортикостероидов способны активировать иммуногенез вследствие ингибирования клеток-супрессоров [Фролов Б.А. и соавт., 1985].

Из алкалоидов выраженным иммуносупрессивным свойством обладает колцихин, известный как ингибитор митоза. Вместо типичных веретен подобные структуры вырабатываются в результате реакции с микроканальцами, в анафазе хромосомы не могут разъединиться: наступает либо гибель клетки, либо образование мутантов. Колцихин оказывает влияние на синтез ДНК и РНК, подавляет фагоцитоз, неселективно уменьшает содержание циркулирующих хелперных/индукторных и супрессорных/цитотоксических Т-клеток [Ilfeld D., 1984]. Антимитотический эффект вызывают алкалоиды барвинка, розевин и винкристин. Эти препараты останавливают митоз на стадии метафазы, изменяют нуклеиновый обмен, являются антагонистами глутаминовой кислоты].

К иммуносупрессантам относятся также антиметаболиты, антагонисты пурина (6-меркаптопурин, азотиоприн), пиримидина, аминокислот, фолиевой кислоты (метотрексат), алкилирующие вещества (циклофосфан, алкилсульфаны, бисульфан и др.) Данные соединения оказывают влияние на пролиферацию, дифференцировку клеток, Т-клеточные и антителозависимые иммунные реакции.

К обширной группе иммунодепрессантов относятся антибиотики. По принципу действия иммуносупрессивные антибиотики представляют собой крайне гетерогенную группу, однако у них удалось обнаружить способность к селективности, что может быть использовано для целенаправленного влияния на определенные процессы обмена в иммунных реакциях.

В ряде случаев противоречивость данных литературы в отношении стимулирующих или супрессирующих влияний антибиотиков на гуморальный или клеточный иммунный ответ связана с применением в экспериментах различных доз препаратов, особенностями их назначения, видом или линией животных, использованием в опытах разных микроорганизмов и антигенов, получением данных в опытах in vivo или in vitro.

Снижение большинства из исследованных иммунных параметров при лечении антигрибковыми средствами (амфотерицин-В и др.)

подтверждает данные многочисленных исследований, описанные в монографии J. Descotes (1986). При этом отмечается активация фагоцитоза у флюороцитозина, а нистатин многократно увеличивает некоторые показатели гуморального иммунитета (Т-зависимый ответ на ЭБ, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, стимулированную соответственно фитогемагглютинином и липополисаха-ридом).

Психотропные препараты могут обладать в зависимости от условий применения как иммуностимулирующим, так и иммунодепрессивными свойствами. В литературе наибольшее отражение нашло описание их иммуносупрессирующих эффектов. Производные фенотиазинов (хлорпромазин, клотиапин, клозапин, левомепромазин, перфеназин, прохлорперазин, промазин, прометазин, тиоридазин, тиопроперазин, трифлуороперазин) угнетают многочисленные показатели НРО, клеточного и гуморального иммунитета в опытах in vivo и in vitro на различных видах животных, а также при изучении показателей у больных, получавших данные вещества. Установлен ингибиторный эффект фенотиазинов (флуфеназина) на цитолиз опухолевых клеток, опосредованный естественными клетками-киллерам], описано угнетение трифторпиразином и хлорпромазином розеткообразования. Представлены доказательства, что хлорпромазин ингибирует синтез мРНК, специфичной для ИЛ-2, γ-интерферона, α-фактора некроза опухолей и c-myc протоонкогена; угнетает пролиферацию тимоцитов. Аналогичные свойства установлены у производного бутирофенона галоперидола, трициклических антидепрессантов (амитриптилина, дезипримина, имипрамина, нортриптилина).

В отношении иммунотропных свойств производных бензодиазепинов данные противоречивы, свойства этих соединений существенно зависят от их структуры и типа действия (центрального или периферического).

Под влиянием диазепама установлено угнетение пролиферации Т-лимфоцитов, индуцированных фитогемагглютинином in vitro при концентрации 0,13 мМ. При 3-дневной экспозиции диазепам снижал Т-зависимое антителообразование в дозах 1 и 8 мг/кг в день при применении в течение соответственно 20 и 14 дней, а также реакцию ГЗТ. Флунитразепам уменьшал фагоцитоз, оцениваемый в НСТ-тесте. Тем не менее, в опытах на мышах и крысах установлено, что феназепам в дозах 5 мг/кг при однократном применении увеличивал антителообразование, в более высоких – снижал его [Забродский П.Ф., 1991]. Производные бензодиазепина Ro 5-4864 и диазепам усиливали

гуморальный иммунный ответ вследствие индукции способности макрофагов стимулировать антителообразование. Выявлено стимулирующее влияние бензодиазепинов только при высоких дозах иммунизации. Показано, что диазепам усиливает хемотаксис человеческих лимфоцитов и выработку Т-зависимых антител у крыс. В условиях in vitro показано, что диазепам в концентрациях 10^{-7}-10^{-6} М в значительной степени тормозит фагоцитоз и киллинг человеческими полиморфноядерными клетками и моноцитами. Диазепам и тазепам стимулируют розеткообразование в малых дозах, не проявляя эффекта в средних и угнетая в больших.

В механизме иммуносупрессорных эффектов бензодиазепинов существенное значение имеет ингибирование продукции ИЛ-3 и ИЛ-2, причем это свойство не характерно для центральных лигандов (клоназепама). Считают, что иммуносупрессорная активность характерна для лигандов периферического и смешанного, но не центрального типа.

У больных однократное внутривенное введение мидазолама (0,08 мг однократно, внутривенно) сопровождается выраженным отсроченным ингибированием, индуцируемой липополисахаридом продукции 1β, α-фактора некроза опухоли и ИЛ-6 моноцитами периферической крови. Таким образом, бензодиазепины изменяют способность моноцитов синтезировать ключевые медиаторы воспалительного ответа. Выявлено угнетение реакции ГЗТ у мышей под влиянием мепробамата.

Неоднозначны данные в отношении иммунотропных эффектов ГАМК: описано как стимулирующее действие этого соединения на иммунитет вследствие увеличения межклеточной кооперации и действия на рецепторы лимфоцитов, так и иммуносупрессивный эффект, который отменялся индукцией Р-450-зависимых монооксигеназ печени.

При изучении иммунотропных свойств наркотических анальгетиков установлено, что морфин в опыте на мышах снижает функцию клеточного иммунитета, неспецифическую защиту организма и устойчивость к инфекции.

Одной из причин постхирургической иммуносупрессии считают применение анестезирующих газов – закиси азота, галотана, энфлурана. Показано, что все эти анестезирующие вещества снижают in vitro активность ЕКК у человека на 12-33% в зависимости от природы газа, его дозы и соотношения ЕКК и клеток-мишеней. Через некоторое время после наркоза активность ЕКК нормализуется].

Хемотаксис, реакцию ГЗТ, пролиферацию Т-лимфоцитов и их цитотоксичность угнетают барбитураты, вводимые внутривенно, – метогекситал, пентобарбитал, тиопентал, а также местные анестетики – буривакаин, лидокаин, прилокаин, прокаин, тетракаин.

В опытах на мышах метронидазол (100-200 мг/кг, в течение 5 дней) и циметидин (200 мг/кг, в течение 5 сут) снижали реакцию ГЗТ, тинидазол (100-200 мг/кг в течение 5 сут) не оказывал влияния на данную реакцию. Исследованные препараты в дозе 10 мг/кг (внутрибрюшинно, ежедневно, на протяжении 8 сут после иммунизации крыс яичным альбумином) ингибировали миграцию лейкоцитов плазмы в присутствии антигена. Описанные эффекты обусловлены взаимодействием препаратов с H_2-рецепторами Т-лимфоцитов.

Серотонин увеличивает Т-клеточную активность при низких дозах и уменьшает при высоких.

Блокаторы K^+-каналов (тетраэтиламмоний и 4-аминопиридин), блокаторы Ca^{2+}-активированных К+-каналов (квинин), блокаторы Ca^{+2}-каналов (никель и верапамил) подавляют стимулированную липополисахаридом В-клеточную пролиферацию. Аминокислотные препараты в определенных дозах снижают иммунный ответ. Так, авиамин в дозе 65 мг/кг обладает иммуносупрессорными свойствами.

В экспериментах на мышах выявлено как ингибирующее, так и стимулирующее действие кофеина на иммунитет в зависимости от схемы применения препарата и дозы.

Теофиллин ингибирует различные клеточные иммунные реакции, фагоцитоз, активность ЕКК, в то же время вследствие активации цАМФ этот препарат способен повышать Т-зависимое антителообразование. Циннаризин снижает Т-зависимое антителообразование и пролиферацию В-клеток, но увеличивает реакцию ГЗТ. Это, вероятно, обусловлено его активацией лимфоцитов Th1-типа и супрессией Th2-клеток.

Из гормональных препаратов помимо кортикостероидов иммуносупрессивными свойствами обладают половые гормоны: тестостерон, диэтилстильбестрол (увеличивает наряду с общей иммуносупрессией содержание в крови гранулоцитов, моноцитов, повышает фагоцитоз и устойчивость к инфекционным процессам, вызванным некоторыми видами микроорганизмов), эстрадиол (описано увеличение фагоцитоза и синтеза антител к ЭБ у мышей), эстрон, прогестерон.

Таким образом, спектр препаратов с иммуносупрессивными

эффектами довольно широк, одни из них используются как иммунодепрессанты, противоопухолевые вещества, другие обладают иммунодепрессивным действием, которое следует рассматривать как побочное.

Механизмы иммуносупрессивных эффектов реализуются на субкле-точном уровне (ингибирование, модификация ферментативной активности, образование антиметаболитов, включение в синтез в качестве антагонистов аминокислот, фолиевой кислоты, пиримидина, пурина, поражение клеточных органелл, ингибирование митоза и другие изменения нуклеинового обмена, апоптоз клетки и т.п.), на клеточном (модификация мембраны клетки, изменение экспрессии антигенных детерминант, взаимодействие со специфическими рецепторами тучных клеток, снижение синтеза интерлейкинов), на уровне межклеточных взаимодействий и путем ингибирования эффекторных функций иммуноцитов. Точками приложения иммуносупрессоров преимущественно могут быть эфферентная, центральная или аффекторная фазы иммуногенеза. По преобладающему эффекту препараты, угнетающие функцию иммуногенеза, могут действовать на распознавание антигена, его процессинг в макрофагах, активацию, пролиферацию и дифференцировку иммуноцитов.

ГЛАВА 4. ИММУНОТОКСИЧНОСТЬ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ И АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫХ ТОКСИЧНЫХ ХИМИКАТОВ

4.1. Общая характеристика фосфорорганических соединений

Фосфорорганические соединения (ФОС) относятся к большой группе веществ, широко использующихся в сельском хозяйстве в качестве пестицидов (ФОП): инсектицитов (фосфорорганические инсектициды – ФОИ), фунгицидов, акарицидов, гербицидов (для уничтожения сорняков), дефолиантов (препаратов, вызывающих опадение листьев и облегчающих уборку некоторых культур), десикантов (препаратов, способствующих подсушиванию растений), ротентицидов (средств для борьбы с грызунами). В промышленности ФОС используются для синтеза различных веществ, обладающих избирательным действием в отношении определенных видов животных, и других целей. В быту ФОС применяются в качестве инсектицидов. Некоторые ФОС относятся к боевым отравляющим веществам (БОВ).

Отравления ФОИ могут происходить при нарушении техники безопасности в процессе использования данных соединений по назначению, а также при употреблении их в качестве суррогатов алкоголя или с суицидальной целью. В настоящее время в связи с проводящимся широкомасштабным уничтожением токсичных химикатов (боевых отравляющих веществ – VX, зарина и зомана), относящихся к фосфорорганическим отравляющим веществам (ФОВ), возможны массовые интоксикации при авариях и нарушениях техники безопасности. Не исключено применение ФОВ в качестве отравляющих веществ при осуществлении террористических актов (например, использование сектой «Аум Синрике» в 1975 году зарина в метро города Токио).

В литературе ФОС по токсичности разделяют на 4 группы: сильнодействующие токсичные вещества – тиофос, меркаптофос, метилэтилтиофос; высокотоксичные вещества – метилмеркаптофос, фосфамид, ДДВФ, базудин, антио, цидеал, фталофос, бензофосфат - ($ЛД_{50}$ - 50-200 мг/кг), соединения средней токсичности – хлорофос, метилнитрофос, карбофос, трихлорметафос-3, сайфос - ($ЛД_{50}$ - 200-1000 мг/кг); вещества малой токсичности – винилфосфат, бромофос, абат, цианокс, валексон, демуфос- ($ЛД_{50}$ - более 1000 мг/кг) [Медведь Л.И. и соавт., 1968; Каган Ю.С., 1977; Лужников Е.А. и Костомарова

Л.Г., 2000]. На наш взгляд, следует выделить и пятую группу, к которой относятся ФОВ (ФОС), являюшиеся БОВ с $ЛД_{50}$ менее 10 мг/кг (зарин, зоман, VX).

ФОС представляют собой большую группу токсикантов, обладающих антихолинэстеразным эффектом и довольно подробно описаных в многочисленных учебниках и монографиях [Каган Ю.С., 1977; Саватеев Н.В., 1978; Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000].

Основной механизм действия ФОС на системы и органы организма – нарушение каталитической функции ферментов холинэстераз (антихолинэстеразное действие). Инактивация ацетилхолинэстеразы приводит к накоплению ацетилхолина в центральной нервной системе (ЦНС), мозговом веществе надпочечников, ганглиях симпатической и парасимпатической нервной системы, а также в синаптической щели нервных окончаний парасимпатической нервной системы, подходящим к м-холинорецепторам внутренних органов. Кроме того, ацетилхолин выделяется из пресинаптической мембраны нервных окончаний симпатической нервной системы, иннервирующей потовые железы, и соматической нервной системы, иннервирующей скелетные мышцы. В результате действия ацетилхолина реализуется мускариноподобное, никотиноподобное и центральное действие ФОВ [Саватеев Н.В., 1978; Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000]. К основным неантихолинэстеразным механизмам действия ФОВ относится их способность фосфорилировать некоторые белки, действовать на м- и н-холинорецепторы (курареподобное действие на скелетные мышцы), взаимодействовать с протеолитическими ферментами, оказывать влияние на адренергические структуры, обеспечивать так называемое «облегчающее» действие (способствует выходу ацетилхолина из нервных окончаний) [Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В., 1976; Саватеев Н.В., 1978; Виноградов В.М. и соавт. 1985; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000].

При острых отравлениях ФОС возникают психоневрологические нарушения, нарушения функции дыхания, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, печени, почек и других органов и систем [Голиков С.Н, 1968; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000].

К обычным осложнениям тяжелых отравлений ФОС относятся пневмонии, поздние интоксикационные психозы и полиневриты [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000].

Несомненно, что одной из причин постинтоксикационной пневмонии являяется нарушение механизмов физиологической регуляции системы иммунитета [Забродский П.Ф., 1998]. Возможны и другие инфекционные осложнения и заболевания после острого отравления ФОС [Каган Ю.С., 1977].

Механизм восстановления ферментативной активности АХЭ состоит в связывании реактивирующего агента с остатком ФОС и отрыве последнего от фермента. Отравленный энзим может очень быстро «стареть» и тогда не реактивируется. Например, полупериод «старения» составляет при ингибировании ДФФ – 20 мин, зоманом – 5 мин и т. д. Поэтому применение реактиваторов должно осуществляться как можно раньше.

Восстановление каталитической активности холинэстеразы, угнетенной ФОВ, определяется как процесс реактивации ацетилхолинэстеразы. Фармакологические препараты, способные ускорить такой процесс реактивации, называются реактиваторами холинэстеразы и являются антидотами ФОВ. Кроме того, основным антидотом ФОВ является атропин. В Вооруженных Силах РФ для оказания первой медицинской помощи при отравлениях боевыми отравляющими веществами, относящимися к ФОВ, существуют специальные рецептуры, содержащие холиноблокаторы, реактиваторы холинэстеразы и ряд других соединений [Саватеев Н.В., 1978; Куценко С.А., 2004].

4.2. Основные токсикометрические характеристики антихолинэстеразных токсикантов и холиномиметиков

По данным различных авторов иммунотоксические параметры одних и тех же ФОС могут различаться, как правило, в 2-3 раза. Эта общая особенность для всех ТХВ, связанная с проведением экспериментов на животных в различное время года, обусловленная генотипическими различиями животных одного вида, особенностями их содержания, питания, климатической зоной, микроклиматом вивария и т.п. Чем выше токсичность химических соединений, тем меньше различия токсикометрических параметров, установленные в различных лабораториях.

Краткая токсикометрическая характеристика соединений ($ЛД_{50}$), применяющихся в качестве ФОИ, приведена в табл. 4.1 [Голиков С.Н., 1968; Забродский П.Ф., Линючев М.Н., 1993].

Т а б л и ц а 4.1

Токсичность фосфорорганических инсектицидов

Препарат	Вид животного	Способ введения	$ЛД_{50}$, мг/кг
Тиофос	Крысы	Внутрь	6-15
Меркаптофос	Крысы	Внутрь	2,5-12,0
Октаметил	Крысы	Внутрь	6-7
Метафос	Крысы	Внутрь	15-25
Метилмеркаптофос	Крысы	Внутрь	55-138
Фосфамид	Крысы	Внутрь	230
Метилнитрофос	Крысы	Внутрь	850
Трихлорметафос	Крысы	Внутрь	330
Хлорофос	Крысы	Внутрь	400-1000
Метилацетофос	Мыши	Внутрь	300-1020
Авенин	Мыши	Внутрь	4000
Метилпаратион	Мыши	Внутрибрюшинно	4-10
Гутион	Мыши	Внутрибрюшинно	6-11
Фолекс	Мыши	Внутрибрюшинно	80-160
Ко-пал	Мыши	Внутрибрюшинно	5-9
Паратион	Мыши	Внутрибрюшинно	1-5
Систакс	Мыши	Внутрибрюшинно	1-2
Делнав	Мыши	Внутрибрюшинно	14-21
Тритион	Мыши	Внутрибрюшинно	7-13
Дисистакс	Мыши	Внутрибрюшинно	1,5-2,5

Токсичность ($ЛД_{50}$) прямых холиномиметиков и обратимых и необратимых ингибиторов холинэстеразы по данным различных авторов приведена в табл. 4.2.

Т а б л и ц а 4.2

Токсичность прямых холиномиметиков и обратимых и необратимых ингибиторов холинэстеразы

Препарат	Вид животного	Способ введения	$ЛД_{50}$, мг/кг
1	2	3	4
Аминостигмин	Крысы	Внутрибрюшинно	0,41
	Мыши	Внутрибрюшинно	0,16
	Кролики	Внутрь	3,6
Армин	Крысы	Внутривенно	0,2
	Крысы	Внутрь	1,0

	Мыши	Внутривенно	0,2-04
	Мыши	Подкожно	0,3-1,2
	Мыши	Внутрибрюшинно	0,7-1,0
Диизопропилфтор фосфат	Мыши	Внутривенно	0,2-0,7
	Мыши	Внутрь	36-37

Продолжение таблицы 4.2

1	2	3	4
Диизопропилфтор фосфат	Мыши	Подкожно	3,2-6,2
	Крысы	Внутривенно	0,3-0,5
Пиридостигмин	Мыши	Внутривенно	1,4-1,5
	Мыши	Внутрибрюшинно	5,5
	Мыши	Подкожно	2,7
	Мыши	Внутрь	32
Прозерин	Мыши	Внутривенно	0,16-0,40
	Мыши	Внутрибрюшинно	0,32-0,70
	Мыши	Подкожно	0,30-0,80
	Крысы	Внутривенно	0,25
	Крысы	Внутрибрюшинно	0,30
	Крысы	Подкожно	0,70
Физостигмин (эзерин)	Мыши	Внутривенно	0,39-0,55
	Мыши	Внутрибрюшинно	0,85-2,30
	Мыши	Подкожно	0,75-2,30
	Крысы	Подкожно	2,0-3,0
	Человек	Внутрибрюшинно	0,03
Лобелин	Крысы, мыши	Подкожно	80-100
	Крысы, мыши	Внутрибрюшинно	75
Никотин	Мыши	Внутримышечно	0,3
Пентамин	Мыши	Внутрь	2500
	Мыши	Подкожно	187
	Мыши	Внутривенно	60

В табл. 4.3 приведена токсичность ($ЛД_{50}$) ФОВ, относящихся к антихолинэстеразным токсичным химикатам.

Таблица 4.3

Токсичность ФОВ, относящихся к токсичным химикатам (по данным различных авторов)

ТХ	Вид животного	Способ введения	$ЛД_{50}$, мг/кг
Зарин	Крысы	Внутривенно	0,04-0,06
	Крысы	Внутрь	0,06-0,60
	Мыши	Внутривенно	0,02-0,14
	Мыши	Подкожно	0,05-0,30
	Человек	Внутримышечно	0,03
Зоман	Крысы	Внутривенно	0,02-0,08
	Крысы	Внутрь	0,06-0,60
	Мыши	Внутривенно	0,03-0,09

	Мыши	Подкожно	0,04-0,16
	Мыши	Внутрь	0,04-0,06
	Человек	Подкожно	0,003
VX	Мыши, крысы	Подкожно	0,010-0,025
	Человек	Внутрь	0,07

4.3. Влияние ФОС и антихолинэстеразных токсичных химикатов на доиммунные механизмы защиты от инфекции и систему иммунитета

Интенсивные исследования влияния фосфорорганических соединений на гуморальный иммунный ответ началось в 60-е годы, в период получения Ф.Бернетом и П.Медаваром Нобелевской премии (в 1960 году) за исследования по искусственной индукции иммунологической толерантности и открытия R. Porter (1962) схемы строения иммуноглобулинов [Забродский П.Ф., 1998; Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Descotes J., 1986]. Внимание исследователей в основном было сосредоточено на эффектах, обусловленных хроническим воздействием ФОП [Фeерман И.С. и соавт., 1964; Штенберг А.И., Джунусова Р.М.,1968; Фридман Г.И., 1970].

Рядом исследователей было показано, что ФОС вызывают снижение антителообразования. При последующем изучении функции В-звена иммунитета после хронического воздействия метилмеркаптофоса, хлорофоса, циклофоса и других ФОС эти результаты были существенно дополнены и подтверждены с помощью различных методов исследования гуморальной иммунной реакции [Николаев А.И. и др., 1972; Диноева С.К., 1974; Забродский П. Ф. , 1986; Жминько П.Г., 1986; Присяжнюк Т.Н. и соавт., 1986; Desi I., Varga L., 1983]. Так, было установлено, что при ежесуточном поступлении хлорофоса (5-100 мг/кг) в организм крыс с водой через 1 месяц увеличивалось количество лимфоцитов в периферической крови, затем содержание этих клеток в тимусе и селезенке уменьшалось пропорционально суточной дозе яда [Иванов В.В., 1986]. У лиц, контактирующих с ФОП, изменялись корреляционные связи внутри пула лимфоцитов и нейтрофилов, зависимость между содержанием В-лимфоцитов и общим количеством лимфоцитов [Федоров С.М. и соавт., 1988]. Незначительное снижение синтеза антител (титра антител) под влиянием метилпаратиона сопровождалось существенным уменьшением лимфоидного индекса селезенки. При введении роннела (фенхлорфоса) перорально в дозе 0,5 ppm (ежедневно в течение 3-8 недель) отмечали снижение лимфоидного индекса тимуса на 49%. Уменьшение данного

показателя регистрировали при введении фенхлорфоса перорально в дозе 1 ppm в течение 3-8 недель на 39% [Rodica G., Srefania M.,1973].

В наших исследованиях было установлено (рис. 4.1), что при действии российского VX через 2 сут происходит прямо связанное с дозой снижение лимфоидного индекса (ЛИ) тимуса и селезенки, статистически значимое при дозах токсиканта, составляющих 0,25; 0,50 и 0,75 $ЛД_{50}$ ($p<0,05$). ЛИ тимуса и селезенки при дозе 0,75 $ЛД_{50}$ уменьшался соответственно в 1,57 и 1,35 раза.

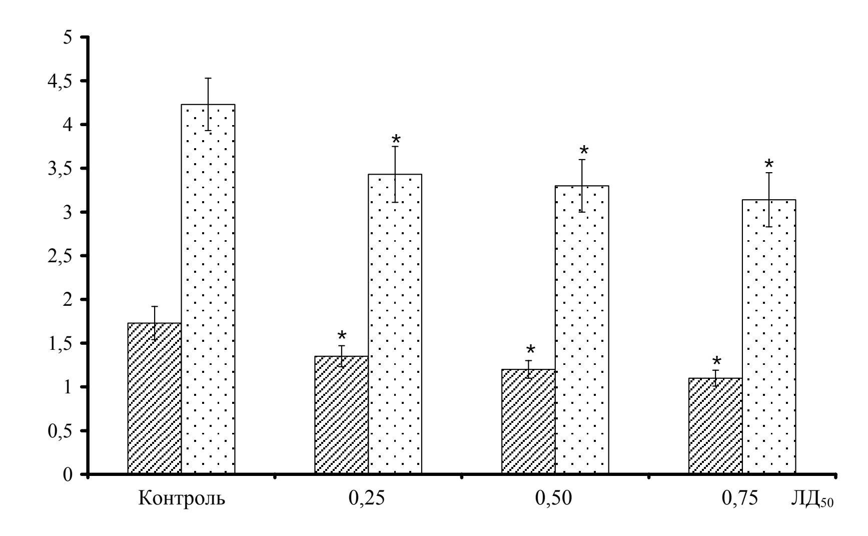


Рис. 4.1. Влияние острого отравления VX (0,75 LD_{50}) на лимфоидный индекс (усл. ед.) тимуса и селезенки крыс через 2 сут (M±m, n=5-7):
▨ - лимфоидный индекс тимуса; ⬚ - лимфоидный индекс селезенки;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Под влиянием острой интоксикации VX в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ (рис. 4.2) наибольшие изменения ЛИ тимуса и селезенки отмечались через 1 сут, значимое снижение показателей ($p<0,05$) было зарегистрировано в период до 3 сут. Через 6 сут ЛИ исследуемых органов восстанавливался до контрольного уровня.

Выявленные изменения имеют неспецифический и специфический компоненты. Аналогичные сдвиги были обнаружены при тяжелой механической травме [Александров В.Н., 1983] и связаны с действием кортикостерона, снижающего ЛИ тимуса, и катехоламинов, вызывающих уменьшение массы селезенки вследствие выхода из нее

лимфоцитов в циркулирующую кровь [Горизонтов П.Д., 1981а]. Специфический компонент исследованной реакции обусловлен действием ацетилхолина на м-холинорецепторы тимоцитов, что приводит к их выходу из тимуса [Maslinski W. et al., 1987].

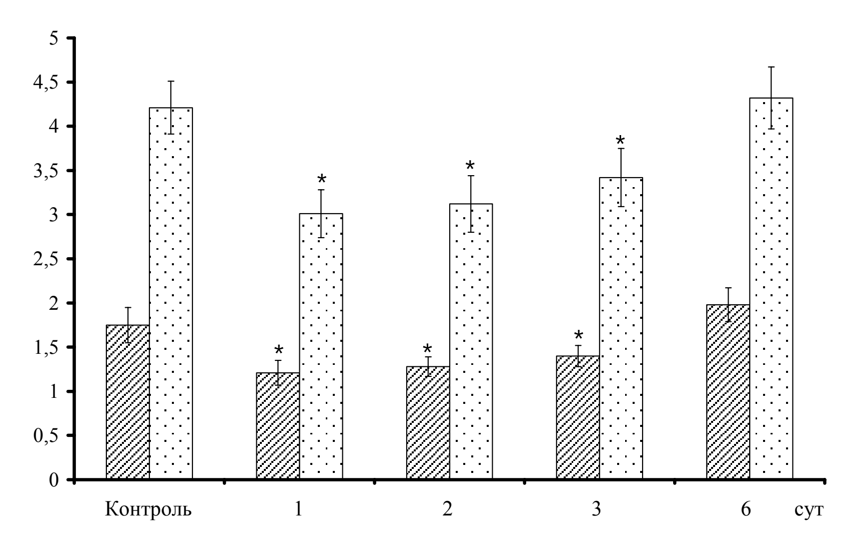


Рис. 4.2. Изменение лимфоидного индекса (усл. ед.) тимуса и селезенки крыс после острого отравления VX (0,75 LD_{50}) (M±m, n=5-7):
▨ - лимфоидный индекс тимуса; ⬚ - лимфоидный индекс селезенки;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Проведенное нами экспериментальное исследование числа Т-лимфоцитов в тимусе показало (рис. 4.3), что в прямой зависимости от дозы антихолинэстеразного ТХ происходит снижение количества клеток в органе. Статистически достоверное снижение показателя ($p<0,05$) происходило при дозах 0,50 и 0,75 $ЛД_{50}$ VX .

Существуют основания полагать, что уменьшение числа лимфоцитов в селезенке обусловлено снижением в органе количества В-лимфоцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 2001].

Нами показано, что под влиянием острой интоксикации VX в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ (рис. 4.4) максимальное снижение числа лимфоцитов в тимусе и селезенке отмечалось через 1 сут, значимое снижение показателей ($p<0,05$) было зарегистрировано в период до 3 сут. Через 6 сут количество клеток в исследуемых органах восстанавливалось до

контрольного значения.

Под влиянием острой интоксикации VX происходит дозозависимое существенное уменьшение лимфоидного индекса тимуса и селезенки в течение 3 сут с последующим восстановлением этих показателей к 6 суткам.

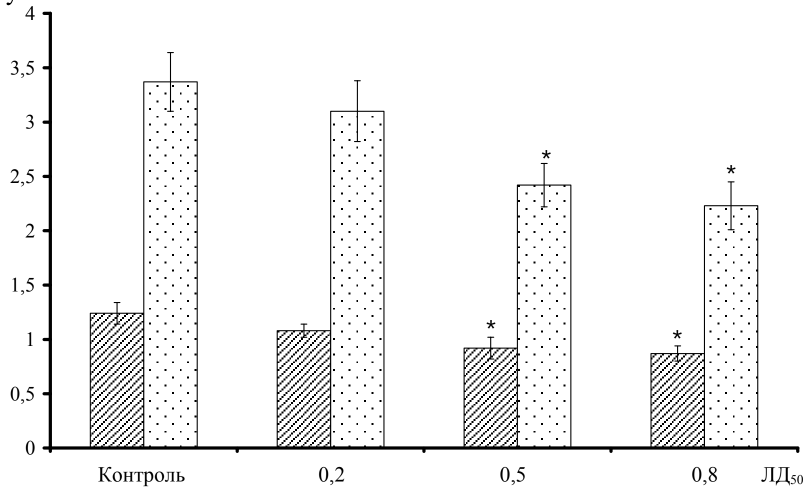
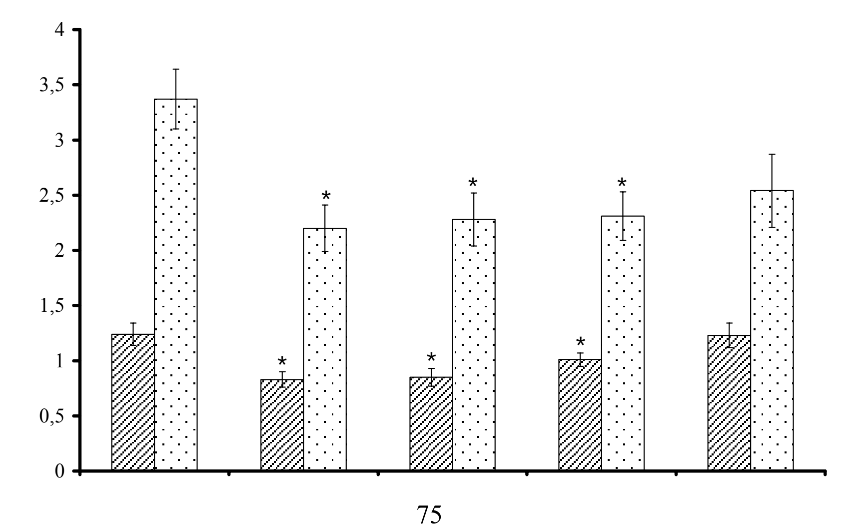


Рис. 4.3. Влияние острого отравления VX (0,75 LD_{50}) на содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке крыс через 2 сут (M±m, n=5-7):
▨ - число Т-лимфоцитов в тимусе (10^8); ⊡ - число лимфоцитов в селезенке (10^8);
* – различие с контролем достоверно – $p<0{,}05$.



Контроль 1 2 3 6 Т, сут

Рис. 4.4. Изменение содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке крыс после острого отравления VX (0,8 LD_{50}) (M$\pm$m, n=5-7):
▨ - число Т-лимфоцитов в тимусе (10^9); ⬚ - число лимфоцитов в селезенке (10^8);
* - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

Аналогичные изменения выявлены при оценке содержания Т-лимфоцитов в тимусе и лимфоцитов в селезенке. Патогенез уменьшения числа лимфоцитов в селезенке связан как с неспецифическим, так и специфическим компонентами [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б; Александров В.Н., 1983; Maslinski W. et al., 1987] и происходит при отравлении ФОС за счет популяции В-клеток [Забродский П.Ф. и соавт., 2001].

Вероятно, увеличение лимфоцитов в селезенке при минимальной дозе VX обусловлено миграцией Т-лимфоцитов из тимуса в селезенку [Забродский П.Ф., Мышкина А.К., 1989]. При отравлении VX происходит миграция лимфоцитов из селезенки в результате активации α-адренорецепторов этого органа адреналином и норадреналином (концентрация данных гормонов в крови увеличивается вследствие действия ацетилхолина – антихолинэстеразный эффект ФОС - на н-холинорецепторы мозгового слоя надпочечников [Горизонтов П.Д., 1981а, Забродский П.Ф. и соавт., 2000].

Нами установлено (рис. 4.5), что под влиянием VX в дозах 0,25; 0,50 и 0,75 $ЛД_{50}$ происходит дозозависимое уменьшение содержания лимфоцитов в тимусе через 1 сут после интоксикации ($p<0,05$) раза. Аналогично изменяется содержание лимфоцитов в селезенке.

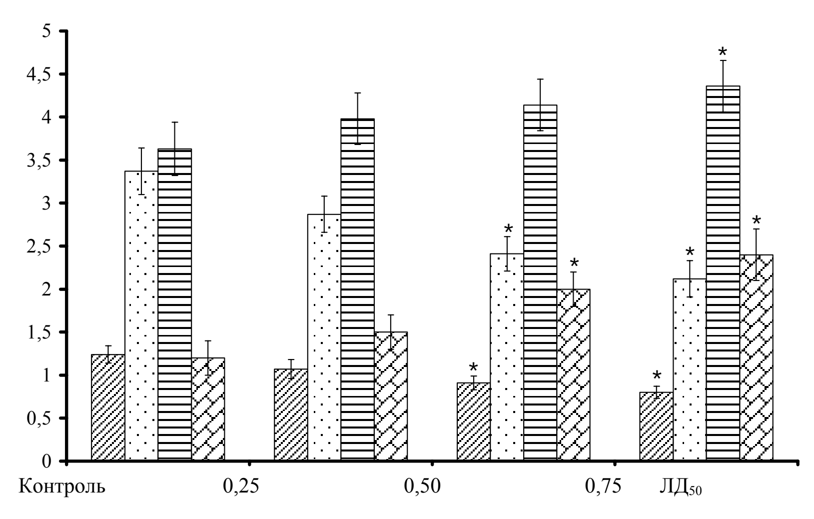


Рис. 4.5. Влияние острого отравления VX на число лимфоцитов в органах системы иммунитета у крыс через 1 сут (M±m):
▨ - число лимфоцитов в тимусе (10^8); ⬚ - число лимфоцитов в селезенке (10^8);
⊟ - число лимфоцитов в костном мозге (10^7); ⊠ - число лимфоцитов в лимфоузлах (10^7);
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

В костном мозге число лимфоцитов через 1 сут незначительно увеличивается. В лимфоузлах VX вызывал дозозависимое повышение содержания лимфоцитов, статистически значимое ($p<0,05$) при дозах, составляющих 0,50 и 0,75 $ЛД_{50}$.

В крови через 6 ч и 1 и 3 сут при дозе зарина 0,75 $ЛД_{50}$ происходило повышение содержания лейкоцитов с 11,7 до 14,2-15,1 10^9/л ($p<0,05$), а через 4 сут – снижение до контрольного уровня. Через 6 сут статистически значимого отличия содержания лейкоцитов в крови от контрольного уровня не отмечалось. Относительное содержание лимфоцитов повышалось в течение 3 сут после отравления до 10% ($p<0,05$). К 4 сут значимые отличия показателя по сравнению с контролем отсутствовали. Абсолютное содержание лимфоцитов в крови увеличивалось до $3,4\cdot10^9$/л в течение 3 сут ($p<0,05$) и восстанавливалось до контрольного значения через 4 сут.

Полученные нами результаты исследований, а также существующие в настоящее время данные литературы позволяют высказать предположение, что возможные механизмы, определяющие перераспределение лимфоцитов между органами иммунной системы после интоксикации антихолинэстеразными ТХ связаны с действием

ацетилхолина на н-холинорецепторы надпочечников и симпатических ганглиев, активацией гипоталамо-гипофозарно-надпочечниковой системы (ГГНС), что приводит к увеличению концентрации в крови адреналина и норадреналина [Дорошевич А.Л., 1971; Денисенко П.П., 1980; Забродский П.Ф., и соавт., 2005] и кортикостероидов [Гурин В.Н.. 1970; Горизонтов П. Д., 1981а, 1981б; Забродский П.Ф. и соавт., 2005].

Выход Т-лимфоцитов из тимуса при интоксикации ФОС связан со стимуляцией м-холинорецепторов тимоцитов [Maslinski W., et al., 1983, 1987] и эффектом кортикостероидов [Горизонтов П. Д., 1981б]. Лимфоциты мигрируют из селезенки вследствие действия преимущественно норадреналина на α-адренореактивные этого органа (вероятно, и на рецепторы лимфоцитов) [Горизонтов П. Д., 1981б]. Увеличение лимфоцитов в костном мозге обусловлено активацией β-адренорецепторов данного органа [Горизонтов П. Д., 1981б].

При изучении нами влияния острой интоксикации хлорофосом на показатели отдельных звеньев иммуногенеза установлено увеличение миграции стволовых клеток, В-лимфоцитов из костного мозга, Т-лимфоцитов из тимуса, уменьшение лимфоидных индексов тимуса и селезенки, числа ядросодержащих клеток в них, угнетение антителообразования. Максимальное уменьшение масс тимуса и селезенки, числа клеток в них отмечалось через 1, 3 суток после интоксикации. Через 7 суток значения данных показателей не отличались от контрольных. Увеличение миграции клеток отражает активацию отдельных звеньев индуктивной фазы иммуногенеза, а угнетение антителообразования является проявлением иммуносупрессивного эффекта.

Дихлофос при хроническом действии в ежесуточных дозах, составляющих 1/40, 1/20, 1/10, $ЛД_{50}$, приводил к снижению гуморальной иммунной реакции у кроликов на брюшнотифозную вакцину [Desi I. et al., 1970]. Такое же действие оказывал паратион, который в дозе 2,2 мг/кг (0,1 $ЛД_{50}$) при ежедневном пероральном поступлении в течение 8 суток уменьшал содержание антителообразующих клеток в селезенке у мышей в 1,5 раза [Wietrowt R.W. et al., 1978]. Наблюдали угнетение В-клеточного звена иммунитета в дозах 1/20, 1/50, 1/100 DL_{50} при пятикратном введении мышам карбофоса [Жамсаранова С.Д. и соавт., 1990].

Представляют интерес данные [Забродский П.Ф. и соавт., 2003] о влиянии боевых отравляющих веществ – зарина и VX – на НРО и основные показатели системы иммунитета. Установлено (табл. 4.4),

что после острого отравления ФОВ зарином и VX происходит уменьшение летальности крыс от экспериментальной пневмонии, вызванной *Proteus vulgaris* соответственно на 20,5 и 26,4% ($p<0,05$), уменьшение DL_{50} *Proteus vulgaris* и среднеэффективного времени жизни животных - Et_{50}, что свидетельствует о снижении антиинфекционной НРО (доиммунных факторов защиты от инфекций).

Таблица 4.4

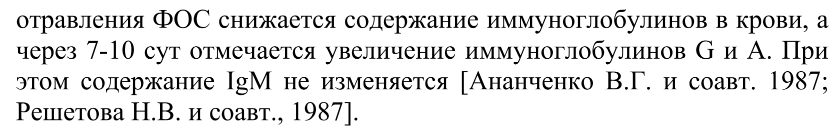
Влияние острого отравления ФОВ (0,5 LD_{50}) на летальность от экспериментальной пневмонии (*Proteus vulgaris*), LD_{50} *Proteus vulgaris* и Et_{50} (M$\pm$m)

ФОВ	Летальность, %	LD_{50} Proteus vulgaris, 10^9 микробных тел	Et_{50}, ч
Контроль	54,2±6,5 (59)	3,1±0,2 (59)	18,7±1,2 (59)
Зарин	33,3±10,2*(21)	3,9±0,3* (21)	23,5±2,5 (21)
VX	27,8±10,5* (18)	4,2±0,3*(18)	24,2±2,3* (18)

Примечание: в скобках - число животных в серии; *$p<0,05$ по сравнению с контролем.

Уменьшение летальности от экспериментальной инфекции в течение 36 ч после острого отравления ФОВ в дозе 0,5 DL_{50} (парадоксальный феномен) может быть связано с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, в результате чего реализуется противовоспалительный и другие протективные эффекты кортикостероидов (КС); возрастанием бактерицидной активности сыворотки крови, сывороточной активности лизоцима и тромбоцитарно-катионного белка (β-лизина) [Забродский П.Ф., 1995; 1998]; стимуляцией ацетилхолином м-холинореактивных структур нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, которая увеличивает их фагоцитарно-метаболическую активность [Забродский П.Ф., 1992; 1995].

Действие острой интоксикации ФОС на антителообразование в экспериментах на животных наиболее активно исследовали с начала 70-х годов. Нарушение иммунного гомеостаза людей при острых интоксикациях ФОИ до сих пор практически не изучено (это обусловлено определенными методическими трудностями и отсутствием у клиницистов единого подхода к получению данных лабораторных исследований и их интерпретации). Данные отдельных сообщений свидетельствуют о том, что у больных через 1 сутки после



отравления ФОС снижается содержание иммуноглобулинов в крови, а через 7-10 сут отмечается увеличение иммуноглобулинов G и A. При этом содержание IgM не изменяется [Ананченко В.Г. и соавт. 1987; Решетова Н.В. и соавт., 1987].

При остром действии на животных паратион в дозе 22,3 мг/кг (1,0 $ЛД_{50}$) при интоксикации через 2 суток после иммунизации эритроцитами барана (продуктивная фаза иммунного ответа) приводил к снижению антителообразующих клеток в селезенке мышей в 3,4 раза. На индуктивную фазу иммунного ответа при введении ФОС одновременно с иммунизацией паратион существенного влияния не оказывал [Wietrowt R.W. et al., 1978]. Аналогичные результаты получены при острой интоксикации паратионом, малатионом, дихлофосом, метамидофосом и другими фосфорорганическими пестицидами [Rodgers K.E. et al., 1986а; Thomas I.K., Imamura T. 1986]. Паратион в дозе 16 мг/кг, вызывающей выраженную холинергическую стимуляцию и гибель 20% мышей, на 65% снижал число клеток в селезенке, синтезирующих Ig M. При применении его через 2 суток после иммунизации (оценка иммунного ответа проводилась на 4-е сутки после иммунизации) доза 4 мг/кг, не вызывающая симптомов интоксикации, не подавляла иммунную реакцию [Casale G.P. et al., 1984]. Показано значительное угнетение антителообразования фозалоном [Алимова М. Т. и соавт., 1991]. Снижение гуморальной иммунной реакции под влиянием ФОС сопровождалась снижением лимфоидных индексов тимуса и селезенки, уменьшением активности холинэстеразы в плазме крови и мозге, увеличением концентрации кортизола и глюкозы в крови, активности трансаминазы в печени [Tiefenbach B., Lange P., 1980; Casale G.P. et al., 1983; Tiefenbach B ., Wichner S., 1985]. Установлена обратная корреляция между активностью холинэстеразы в плазме крови и мозге и угнетением антителообразования [Tiefenbach B. et al., 1983]. Восстановление содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке при интоксикации диметоатом происходило через 72 часа. Атропин в дозе 75 мг/кг не оказывал защитного действия на синтез антител [Tiefenbach B., Lange P., 1980].

Снижение синтеза антител в описанных экспериментах отмечалось не только при дозах, вызывающих выраженную холинергическую стимуляцию [Casale G.P. et al., 1983; 1984], но и при воздействии относительно небольшой дозы ФОС (метомидофоса), составляющей 0,1 $ЛД_{50}$. При дальнейшем уменьшении дозы метомидофоса до 0,05 $ЛД_{50}$ проявлялось стимулирующее влияние ФОС на гуморальный

иммунный ответ [Tiefenbach B., Wichner S., 1985]. Действие ФОС на синтез и IgG зависит от соотношения сроков интоксикации и иммунизации. Продукция IgM снижается при введении ФОС через 2 суток после антигенной стимуляции. При этом через 8 суток отмечается тенденция к увеличению синтеза IgG. Однако, если вызвать интоксикацию через 6 суток после иммунизации, то количество клеток в селезенке, синтезирующих антитела этого класса, снижается в 2 раза [Casale G.P. et al., 1983; 1984]. Предполагают, что супрессия иммунного ответа связана с увеличением содержания в крови под влиянием ФОС кортикостероидов, так как применение преднизолона в дозе 100 мг/кг вызывает аналогичный эффект, а адреналэктомия иммунотоксическое действие антихолинэстеразных ядов устраняет [Tiefenbach B. et al., 1983; Tiefenbach B., Wichner S., 1985]. В экспериментах на крысах Вистар было установлено, что введение внутрь форматиона в дозе 1/100 $ЛД_{50}$ (3,5 мг/кг) в течение 2 мес. вызывает повышение кортикостерона в крови, коррелирующее со снижением гуморального иммунитета [Хусинов А.А. и соавт., 1991]. В опытах in vitro показано, что индуцированная антииммуноглобулинами подвижность В-лимфоцитов, существенно подавляется под влиянием диизопропилфторфосфата [Becker E.L., Unanue E.R., 1976]. Эти эксперименты не позволяют признать роль глюкокортикоидов в супрессии функции В-клеток под влиянием ФОС основной.

При изучении иммунотоксических свойств нескольких наиболее часто используемых в сельском хозяйстве пестицидов, в том числе и фосфорорганического инсектицида - метилпаратиона, отмечалось существенное уменьшение реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на туберкулин у кроликов после получения ими пестицидов в различных дозах в течение 10 и 24 суток. Супрессия реакции ГЗТ прямо зависела от дозы и времени интоксикации. Например, метилпаратион в дозах от 0,04 до 1,50 мг/кг, получаемых ежедневно, через 24 дня уменьшал реакцию на повторные введения туберкулина от 1,2 до 2,8 раз. На 10-е сутки после ежедневного получения пестицидов дозозависимый эффект для метилпаратиона и большинства исследованных пестицидов отсутствовал [Street J.C., Sharma R.P., 1975]. Курение и потребление алкоголя потенцируют вызываемые метилпаратионом повреждения лимфоцитов [Sunil K. K.B, 1993].

Реакцию ГЗТ в дозе 1/100 $ЛД_{50}$ (13,5 мг/кг) при пероральном поступлении в течение двух месяцев у крыс Вистар снижал

форматион, причем это было связано с увеличением содержания в крови кортикостерона [Хусинов А.А. и соавт., 1991]. Связь синтеза антител с концентрацией в циркулирующей крови этого глюкокортикоида после интоксикации ДДВФ в последующем была подтверждена [Забродский П.Ф., 1993].

При изучении влияния острого отравления зарином и VX на гуморальные и клеточные иммунные реакции крыс нами установлено, что данные ТХ существенно снижают исследованные показатели системы иммунитета (табл. 4.5).

Таблица 4.5

Влияние острого отравления антихолинэстеразных ТХ (0,5 DL_{50}) на гуморальные и клеточные имунные реакции крыс (M±m, n=9-11)

ФОВ	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	39,4±3,5	28,3±2,4	31,3±3,5	15,1±1,9	30,0 ± 2,7
Зарин	25,1±2,3*	22,5±1,9	14,0±2,2*	9,5±1,3*	19,7±1,8*
VX	21,2±2,5*	21,8±2,3	12,1±2,0*	8,3±1,4*	20,2±2,0*

Примечание: *$p<0,05$ по сравнению с контролем.

Так, под влиянием острого отравления антихолиэстеразных ТХ происходила супрессия антителообразования, причем отмечалась более выраженное снижение Т-зависимого гуморального иммунного ответа (на ЭБ) по сравнению с Т-независимой гуморальной иммунной реакцией (на Vi-Ag). Острое воздействие ФОВ в дозе, составляющей 0,5 DL_{50}, вызывало уменьшение функции ЕКК, снижало АЗКЦ и реакцию ГЗТ. В целом, величина редукции исследованных показателей системы иммунитета при действии VX превышала эффект зарина при действии данных ФОС в эквилетальных дозах.

Снижение преимущественно Т-зависимого антителообразования, редукция активности ЕКК и АЗКЦ обусловлены при отравлении ФОС иммуносупрессивным действием и реализацией механизмов апоптоза иммуноцитов под влиянием КС [Забродский П. Ф., 1998; Забродский П. Ф., Германчук В.Г., 2000; Ficek W., 1997] иммунотоксическим эффектом, вызванным инактивацией эстераз Т-лимфоцитов и, возможно, ЕКК и К-клеток [Забродский П. Ф., 1978; Хусинов А.А. и соавт., 1991; Newcombe D.S., 1991]. Супрессия Т-независимой антителопродукции может быть связана с действием КС и на В-клетки [Забродский П. Ф., 1998].

Данные литературы свидетельствуют о том, что в некоторых случаях ФОС могут не вызывать снижения антителообразования. Так,

при действии лептофоса при концентрациях в пище от 10 до 500 ppm, отмечалось уменьшение активности холинэстеразы сыворотки крови в 1,5-8,8 раза через 12 недель, но при этом не было отмечено существенного влияния этого ФОП на количество антителообразующих клеток селезенки при первичном и вторичном гуморальном иммунном ответе [Koller L.D. et al., 1976]. Не обнаружены сдвиги при исследовании содержания иммуноглобулинов у рабочих, обрабатывающих теплицы фосфорорганическими соединениями [Desi I. et al., 1986]. Хлорофос при хронической интоксикации в течение 100 дней в ежедневной дозе 1/20 $ЛД_{50}$ приводил даже к увеличению титра антител к брюшнотифозному О- и Vi-антигену [Шафеев М.Ш..1976]. Такие же изменения под влиянием ФОС отмечались в отношении IgM и IgG. При этом в сыворотке крови уменьшалось только содержание IgA [Kossman S. et al., 1985].

Неоднозначность изменений гуморальной иммунной реакции под влиянием хронической интоксикации ФОС у людей и животных может быть связана с особенностями иммунотоксичности этих соединений [Lee T.P. et al., 1979; Audre F. et al. 1983], исследованиями, проводящимися в различное время суток, когда концентрация в крови кортикостероидов существенно различалась [Иванова С.С., 1998; Dhabhar F. S. et al., 1996], ошибками в формировании контрольных групп, оценкой различных доз яда, а также погрешностями при определении этих доз, использованием различных видов животных, проведением иммунизации в различные сроки по отношению к интоксикации; не исключены и методические ошибки при проведении лабораторных исследований. Следует отметить, что иммунотоксикология в этот период как прикладное направление на стыке двух наук только начинает развиваться.

Можно предположить, что в малых дозах ФОВ, так же как и фармакологические средства, обладающие холиномиметическим действием, способны оказывать стимулирующее влияние на функцию В-лимфоцитов (плазмоцитов) и Т-хелперов в результате повышения внутриклеточного содержания цГМФ под влиянием ацетилхолина [Денисенко П.П., 1980; Абрамов В.В. и соавт., 1986; MacManus J.P. et al, 1975]. Основными конечными внутриклеточными регуляторами функции иммунных клеток, через которые реализуется действие нейромедиаторов и пептидных гормонов, являются цГМФ и цАМФ [Garoroy M.R. et al., 1975]. Они опосредуют также выделение и действие лимфокинов и других внутрисистемных факторов регуляции иммунного ответа. Показано, что обработка in vitro в течение 60 мин

В-клеток крови доноров малыми дозами ФОС, увеличивающими внутриклеточное содержание цГМФ, индуцировали проявление хелперной активности у интактных В-клеток, усиление активности В-клеток памяти и частичное или полное подавление активности В-супрессоров, индуцированных антигеном [Калинкович А.Г.,и соавт., 1988].

У лиц, подвергшихся воздействию ФОС, значительно чаще встречаются лимфопролиферативные заболевания. ФОС тормозят активность эстераз в моноцитах, цитотоксических Т-лимфоцитах, интактных и активированных лимфокинами естественных киллерах. Эти эффекты ФОС ослабляют иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые данными видами клеток. Развитие лимфомы часто связано с присутствием вируса Эпштейна-Барра и человеческого герпесвируса-6, иммунитет к которым опосредуется моноцитами, Т-лимфоцитами и естественными киллерами. Высказывается предположение, что торможение активности эстераз иммунокомпетентных клеток, вызываемое ФОС, ослабляет процесс эстеразозависимой детоксикации, в результате чего активируется процесс лимфомогенеза. Кроме того, ингибирование эстераз подавляет иммунитет к таким патогенам, способствующим развитию лимфом, как герпесвирусы [Newcombe D.S., 1991].

Нами определялось влияние антихолинэстеразного ТХ VX на ацетилхолинэстеразу лимфоцитов тимуса и селезенки крыс Вистар, а также роли этого эффекта и ацетилхолина в дозе 50 мг/кг в изменении антителообразования. VX вводили подкожно в дозе 0,5 $ЛД_{50}$.

Установлено (табл. 4.6), что выделенные Т-лимфоциты тимуса и селезенки, относящиеся к основной популяции Т-клеток «низкой плотности» с максимальным содержанием ацетилхолинэстеразы (АХЭ) [Szelenyi J.G., et al, 1982.], обладают практически одинаковой антихолинэстеразной активностью.

Т а б л и ц а 4.6

Влияние VX (0,5 $ЛД_{50}$) и ацетилхолина на активность ацетилхолин-эстеразы в Т-лимфоцитах, выделенных из ядросодержащих клеток тимуса и селезенки у крыс Вистар, (мЕД/10^9) и число АОК к ЭБ в селезенке через 4 сут после иммунизации (M±m, n =8-10)

Серии опытов	Тимус	Селезенка	АОК к ЭБ, 10^3
Контроль	87,2±8,5	110,2±11,0	28,2±3,0
Ацетилхолин	115,9±11,0*	140,3±10,5*	38,2±3,1*
VX	13,2 ± 2,2*	8,2±2,1*	19,4±2,3*

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Введение ацетилхолина (АХ) приводило к увеличению активности АХЭ в Т-клетках, вероятно, вследствие реализации механизмов, направленных на поддержание иммунного гомеостаза путем увеличения гидролиза АХ на мембране Т-лимфоцита. При этом ограничивается действие данного медиатора на м- и н-холинорецепторы, наличие которых на Т- лимфоцитах доказано [Maslinski W., K. et al., 1987; Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979]. В результате обеспечивается оптимальное соотношение цАМФ/цГМФ в ИКК, необходимое для их пролиферации и дифференцировки [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979]. VX существенно снижал активность АХЭ в Т-клетках, уменьшая число АОК к ЭБ в селезенке, а действие АХ вызывало противоположные эффекты.

Таким образом, при интоксикации VX в сублетальной дозе 0,5 $ЛД_{50}$ реализуются два специфических противоположных эффекта: ингибирование ацетилхолинэстеразы Т-лимфоцитов, приводящее к супрессии тимусзависимого антителообразования (данный эффект преобладает), и действие ацетилхолина, стимулирующее антителопродукцию. Увеличение в интактных Т-лимфоцитах при действии АХ активности АХЭ позволяет предположить, что роль АХЭ на мембране Т-клетки заключается в изменении степени активации холинергических рецепторов лимфоцитов ацетилхолином, что является одним из механизмов регуляции гуморального иммунного ответа.

Можно полагать, что при дозах ФОВ, превышающих 0,5 $ЛД_{50,}$ возможна суммация иммуносупрессирующего эффекта ацетилхолина и антихолинэстеразного эффекта токсиканта.

В эксперимeтах на животных установлено [Забродский П.Ф., Мышкина А.К., 1989], что при применении ФОС (армина) за 1 ч до введения разрешающей дозы антигена существенно уменьшалось формирование ГЗТ. Снижение иммуногенности спленоцитов в опытах по изучению формирования ГЗТ при различных моделях может быть связано с ингибированием ФОС эстераз иммунокомпетентных клеток [Ferluga J. et al., 1972]. Показано, что под влиянием холинергической стимуляции равновероятны два процесса: относительное увеличение в селезенке количества либо Т-эффекторов и Т-хелперов, либо клеток-супрессоров. На эти процессы существенное влияние оказывает стимуляция м-холинорецепторов ацетилхолином [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979], концентрация которого после действия ФОС в синапсах и циркулирующей крови повышается. Результаты

проведенных опытов позволили авторам заключить, что ФОС (армин) в дозе 0,7 $ЛД_{50}$ изменял формирование реакции ГЗТ, характер проявления которой на разных моделях в основном связан с особенностями миграции Т-лимфоцитов из селезенки. При рассмотрении иммунотропных эффектов ФОС следует учитывать, что дифференцировка и созревание Т-лимфоцитов регулируются имеющимися на эпителиальных клетках тимуса никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами [Tominaca K. et al., 1989], а также (как уже указывалось) наличием м- и н-холинорецепторов на лимфоцитах [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979; Masini et al., 1985; Rossi A. et al., 1989].

При хроническом воздействии фосфорорганических инсектицидов на рабочих отмечалось ингибирование Т-клеточного эффекта на митогенную стимуляцию фитогемагглютинином и уменьшение содержания Е-РОК в крови [Золотникова Г.П., 1978; Кащенович Л.А., и соавт.1981].

Под влиянием хлорофоса существенно снижалась реакция трансплантат против хозяина и фагоцитарное число [Жамсаранова С.Д. и соавт., 1990]. Данные экспериментальных исследований свидетельствуют, что угнетение клеточного иммунитета при интоксикации ФОС сопровождается изменением иммунной структуры лимфатических фолликулов селезенки, в частности, уменьшением тимусзависимых зон в этом органе с атрофией коры тимуса [Street J.C., Sharma R.P, 1975].

После хронического действия ДДВФ [Забродский П.Ф., Кадушкин А.М., 2007] ФОС в дозе 0,01 $ЛД_{50}$ в течение 30 сут показатели ФМАН существенно снижалась по сравнению с контролем ($p<0,05$), причем степень их снижения приблизительно соответствовала редукции параметров после острого действия ДДВФ через 3 сут (табл. 4.7).

Т а б л и ц а 4.7

Изменение фагоцитарно-метаболической активности ПЯЛ крыс под влиянием хронического воздействия ДДВФ (0,01 $ЛД_{50}$) в течение 30 сут ($M \pm m$, n =7-10)

Серии опытов	Показатели	Срок наблюдения: 31сут
Контроль	ФП	28,1±1,9
	ФЧ	1,5±0,2
	НСТ сп	0,28±0,02
	НСТ инд	0,59±0,04
	ФП	16,5±1,6*

ДДВФ	ФЧ	0,5±0,1*
	НСТ сп	0,12±0,02*
	НСТинд	0,22±0,04*

Примечание: ФП, ФЧ – соответственно фагоцитарный показатель, фагоцитарное число; НСТ – НСТ-тест спонтанный и индуцированный – индекс активности ПЯЛ; * - различие с контролем достоверно $p<0,05$.

Данные, полученные в НСТ-тесте, свидетельствуют, что действие ДДВФ реализуется вследствие взаимодействия токсикантов с НАДФ·Н, $НАДФ^+$. Действие ДДВФ, помимо антихолинэстеразного действия (в целом, антиэстеразного эффекта), может быть также связано с ингибированием $ФАД^+$, ФАД·Н, восстановленным и окисленнным убихиноном и цитохромом b_{245} лейкоцитов или иными механизмами нарушения функционирования НАДФ·Н-оксидазного комплекса нейтрофилов. Кроме кислородзависимых антиинфекционных систем фагоцитоза, ФОС, вероятно, поражают и кислороднезависимые микробицидные системы фагоцитов.

Нами установлено, что число антителообразующих клеток к ЭБ, синтезирующим IgM, в селезенке крыс при хроническом действии ДДВФ (0,01 DL_{50} в течение 30 сут) снижалось в 1,58 раза ($p<0,05$). При хроническом действии ДДВФ отмечалось уменьшение АЗКЦ спленоцитов и тимоцитов соответственно в 2,08, 2,20 раза ($p<0,05$) и супрессия функции ЕКК в 1,91 раза ($p<0,05$) При хроническом действии ДДВФ отмечалось приблизительно такое же изменение показателей, как и при остром действии ФОС в дозе 0,50-0,75 DL_{50} [Забродский П.Ф., Кадушкин А.М., 2007].

Представляет интерес сопоставление иммунотоксичности антихолинэстеразных препаратов, относящихся к ФОС, и производными карбаминовой кислоты. Отмечено различное действие дитиокарбаматов на ряд иммунологических параметров in vitro и на выживаемость in vitro лимфоцитов самок мышей. Эффект зависел от дозы, отмечалось различное влияние на массу тимуса и селезенки, активность естественных клеток-киллеров (ЕКК). Диэтилдитиокарбамат и этилен-бис-дитиокарбамат в отличие от метилдитиокарбамата при введении в желудок в дозах 200, 225 и 300 мг/кг в сутки в течение 7 дней не влияли на киллерную активность клеток селезенки [Padget E.L. et al., 1992]. Обработка карбаматов постмитохондриальным супернатантом не оказывала влияния на их цитотоксичность [Rodgers K.E. et al., 1986в]. Полученные данные свидетельствуют о том, что антихолинэстеразный эффект в реализации иммунотоксичности ФОС не является решающим.

В опытах на мышах установлено, что малатион in vitro при концентрациях 75 мкг/мл и выше существенно снижает образование зрелых форм цитотоксических Т-лимфоцитов под влиянием клеток аллогенной опухоли P815. Аналогичный эффект при меньших дозах вызывали этилпаратион, метилпаратион, фенитротион и фентиол, подавляя генерацию цитотоксических Т-лимфоцитов в дозе 5-10 мкг/мл [Rodgers K.E. et al., 1985a]. Преинкубация ФОС с постмитохондриальным супернатантом печени крыс, приводящая к их биотрансформации, значительно ослабляет этот эффект. Карбофуран существенно не влияет на активность цитотоксических Т-клеток, а карбанил подавляет ее в дозе 50-100 мкг/мл. Длительное введение малатиона (0,1 $ЛД_{50}$) в течение двух недель вызывало у мышей уменьшение количества Т-клеток в тимусе. Острая интоксикация данным пестицидом (0,5 $ЛД_{50}$) вызывала увеличение пролиферации Т-лимфоцитов при их стимуляции конканавалином А [Devens B.H. et al., 1985]. Отмечается супрессия выработки Т-ростковых факторов у мышей под влиянием ФОС [Арипова Т. У. и соавт., 1991].

В середине 80-х годов прошлого столетия появляется большое количество работ, посвященных исследованию токсичных эффектов фосфорорганического инсектицида малатиона и O,O,S-триметилтиофосфата, который появляется при хранении этого ФОП в условиях повышенной температуры [Devens B.H. et al., 1985; Rodgers K.E. et al., 1985a, 1985б, 1985в, 1986а, 1986б, 1986в; Thomas I.K., Imamura T., 1986; Rodgers K.E. et al., 1987]. Установлено, что многие иммуносупрессивные эффекты малатиона связаны с действием O,O,S-триметилтиофосфата, обладающего крайне слабой антихолинэстеразной активностью. Острая интоксикация малатионом в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ через 5 сут приводила к увеличению антителообразующих клеток в селезенке после иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) [Rodgers K.E. et al., 1985a]. Отмечалось увеличение пролиферации лимфоцитов в ответ на их стимуляцию липополисахаридом и конканавалином А. При этом количество лимфоцитов в тимусе и селезенке не изменялось. Отсутствие супрессии гуморального иммунного ответа, вероятно, можно объяснить тем обстоятельством, что при применении малатиона в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ не отмечалось признаков интоксикации и изменения холинэстеразной активности плазмы. Повышение активности В-системы иммунитета может быть связано с повышением продукции ИЛ-1 и ИЛ-2. Механизм этого эффекта не ясен. В то же время установлено снижение функции лейкоцитов и макрофагов прод влиянием острой интоксикации карбофосом [Жамсаранова С.Д. и

соавт., 1988; Пирцхалава А.В., 1989]. Неочищенный малатион в опытах in vitro тормозил иммунный ответ на тимусзависимый и тимуснезависимый антигены, подавлял способность макрофагов представлять антиген [Thomas I.K., Imamura T., 1986а, 1986б, 1986в].

Предполагают, что в реализации механизма ФОС, ингибирующего цитотоксичность Т-лимфоцитов, существенное значение имеет связанная с эстеразной активностью проницаемость мембраны клетки-эффектора для ионов кальция и магния. В свою очередь, электролитный обмен этой клетки сопряжен с внутриклеточным содержанием циклических нуклеотидов. Показано, что диизопропилфторфосфат уменьшает АЗКЦ при концентрациях от 0,5 до 4 мМ на 5-80% вследствие нарушения электролитного обмена клетки и изменения сотношения цАМФ/цГМФ [Trinchievi G., M. Marchi de, 1976].

Повышение под влиянием холинергической стимуляции (ацетилхолина) функции естественных клеток-киллеров [Wietrowt R.W. et al., 1978; Grabczewska E. et al., 1990], возможно, является одним из основных факторов, определяющих антиинфекционную неспецифическую резистентность организма под влиянием острого действия ФОС [Забродский П.Ф., 1986, 1987, 1993].

Данные литературы свидетельствуют о том, что ФОВ поражают ЕКК (и цитотоксические Т-лимфоциты) реализацией следующих механизмов: нарушения экзоцитоза гранул, ингибируя ингибируя активность гранзимов; уменьшения внутриклеточного уровня перфорина, гранзима А и гранулизина, опосредованного индукцией дегрануляции ЕКК и ингибированием транскрипции мРНК, участвующей в синтезе перфорина, гранзима А и гранулизина; снижения активации ЕКК вследствие нарушения их взаимодействия с лигандами FasL/Fas, инициирующими процесс цитотоксического эффекта ЕКК; индукции апоптоза иммунных клеток [Li Q., Kawada T., 2006].

Действие ФОВ может извратить механизм действия ЕКК на ксеногенные клетки. При этом ЕКК будут поражать собственные клетки организма. Известно, что одна из систем распознавания, которая является характерной для ЕКК, зависит от киллер-активирующих и киллер-ингибирующих рецепторов этих клеток. Хотя все ядерные клетки в норме экспрессируют молекулы ГКГС класса I на своей поверхности, они могут иногда терять эту способность. Эта потеря может происходить в результате действия ФОВ. Поэтому клетки, которые испытывают недостаток на поверхности молекул ГКГС класса I, в определенной степени «ненормальны». Этот

недостаток молекул ГКГС I класса приводит к тому, что у ЕКК теряется «запрещающий сигнал» для киллер-ингибирующего рецептора, и ЕКК, вероятно, способны уничтожать клетки организма, в которых в результате действия ФОВ снизилось содержание молекул ГКГС класса I [Delves P.J., Roitt I.M., 2000; French A. R., Yokoyama W. M., 2003; Garrity D. et al., 2005; MacFarlane A.W., Campbell K.S., 2006].

Анализ данных литературы и наши собственные исследования по иммунотоксическому действию ФОС позволяет полагать, что механизмы их иммунотоксических эффектов в сублетальных дозах определяются эффектом гормонов надпочечников, ингибированием эстераз Т-хелперов, моноцитов, нейтрофилов, системы комплемента [Becker E.Z. et al., 1957, 1964, 1966, 1967, 1971], действием высоких концентраций ацетилхолина на м-холинорецепторы иммуноцитов. В результате реализации данных механизмов может происходить снижение гуморального иммунного ответа и супрессия клеточных иммунных реакций.

4.4. Роль симпатико-адреналовой системы в супрессии иммунных реакций при отравлении ФОС

При определение роли адреналина и норадреналина в реализации основных иммунных реакций при острой интоксикации VX установлено (табл. 4.8), что под влиянием VX в прямой зависимости от дозы происходит супрессия исследованных показателей иммунного гомеостаза (ЕЦ, АОК к ЭБ, АОК к Vi-Ag, АЗКЦ и реакции ГЗТ), а также дозозависимое повышение в плазме крови адреналина и норадреналина.

Напрашивается вывод о редукции данных показателей под влиянием адреналина и норадреналина. Однако это предположение опровергается результатами, полученными в опытах с введением крысам адреналина и норадреналина одновременно с иммунизацией (табл.4.8). Эти результаты свидетельствуют о том, что адреналин и норадреналин в дозе, составляющей 0,25 мг/кг, существенно повышали исследованные иммунные реакции, за исключением ЕЦ, а в дозе - 2,50 мг/кг вызывали редукцию всех исследованных иммунных реакций.

Таблица 4.8

Влияние VX на основные иммунные реакции и концентрацию адреналина и норадреналина в плазме крови крыс Вистар (M+m, n =6-8)

Параметры	VX, ЛД$_{50}$		
	К	0,2	0,8
ЕЦ,%	28,5+3,2	15,0+3,0*	12,2+2,1*
АОК к ЭБ, 103	33,2+3,5	21,4+2,2*	16,1+2,0*
АОК к Vi-Ag, 103	24,5+3,1	14,1+2,0*	12,4+1,9*
АЗКЦ, %	8,4+1,8	5,3+1,3	4,0+0,9*
Реакция ГЗТ, %	30,4+2,7	24,1+2,0*	17,1+1,3*
Адреналин, мкг/л	5,8+1,1	11,5+1,5*	18,2+2,0*
Норадреналин, мкг/л	2,0+0,7	4,2+1,1*	8,1+1,5*

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с контролем (К).

Нами установлено (табл. 4.9), что под влиянием адреналина в минимальной дозе активация иммунных реакций более выражена, чем при действии норадреналина, что обусловлено преимущественной стимуляцией адреналином β-адренорецепторов иммуноцитов [Виноградов В.М., 1985]. Доза адреналина, составляющая 0,25 мг/кг, вызывала менее выраженную стимуляцию Т-зависимого антителообразования по сравнению с тимуснезависимым (соответственно в 1,72 и 2,45 раза).

Таблица 4.9

Влияние адреналина и норадреналина на основные иммунные реакции в плазме крови крыс Вистар (М+m, n =7-9)

Параметры	Контроль	Катехоламины, мг/кг			
		Адреналин		Норадреналин	
		0,25	2,50	0,25	2,50
ЕЦ,%	29,8+4,3	21,1+2,9	15,2+2,2*	23,5+2,5	13,3+2,3*
АОК к ЭБ, 10^3	31,2+3,7	53,7+4,6*	20,0+2,1*	43,3+3,1*	21,1+2,2*
АОК к Vi-Ag, 10^3	22,4+3,1	54,9+3,3*	11,0+1,5*	35,8+2,9*	9,7+1,0*
АЗКЦ, %	8,5+1,9	15,1+1,4*	4,7+0,9*	13,7+1,1*	4,0+0,8*
ГЗТ, %	29,5+2,8	37,4+3,1*	20,5+2,1*	34,5+2,5	18,5+1,7*

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Следует отметить, что под влиянием адреналина и норадреналина доза, равная 0,25 мг/кг, создает концентрацию в плазме крови, превышающую содержание данных катехоламинов после острой интоксикации ДДВФ (0,8 ЛД50), соответственно (приблизительно) в 10 и 20 раз (с учетом биотрансформации, взаимодействия с рецепторами и выведения эти значения могут быть несколько меньшими). Усиление дифференцировки незрелых лимфоидных клеток [Ройт А. и соавт., 2000], в частности В-лимфоцитов, под влиянием активации их β-адренорецепторов объясняет выявленное

нами и описанное в литературе увеличение антителопродукции к преимущественно к Т-независимому антигену при введении адреналина и норадреналина в малых дозах [Gilbert K.M., Hoffmann M.K., 1985].

Стимулирующее действие катехоламинов опосредуется через α- и β-адренорецепторы иммуноцитов путем синтеза цАМФ, приводящего к продукции соответствующих интерлейкинов, осуществляющих регуляцию иммунных реакций [Madden K. S., Livnat S., 1991]. Известно, что цАМФ стимулирует дифференцировку незрелых лимфоидных клеток [Coffey R.G., Hadden J.W.,1985], в частности В-лимфоцитов [Holte H., Torjesen P.,1988]. Предполагают, что активация β-адренорецепторов иммунокомпетентных клеток в первые 12 ч (индуктивная фаза иммунного ответа) после антигенного стимула увеличивает антителообразование. Увеличение под влиянием адреналина лимфоцитов CD4+ и CD8+ в селезенке мышей через 90 мин после его введения [Techima H. et al.,1991], видимо обусловливает активацию индуктивной фазы иммуногенеза, сопровождающуюся увеличением числа АОК, реакции ГЗТ и АЗКЦ. Существуют основания полагать, что увеличение А и НА в крови при острой интоксикации ФОС сопровождается их уменьшением в мозгу и надпочечниках вследствие действия ацетилхолина [Brzezinski J., 1972]. Угнетение иммунных реакций при высоких дозах катехоламинов [Денисенко П.П., 1980] объясняется тем обстоятельством, что эти дозы являются пусковым фактором В-клеточной активации, но одновременно подавляют Т-клеточную хелперную активность [Gilbert K.M., Hoffmann M.K., 1985]. Редукция через 1 сут ЕЦ под влиянием катехоламинов (0,25-2,50 мг/кг) обусловлена увеличением соотношения цАМФ/цГМФ [Garoroy M.R., Strom T.B., 1975]. Доказано, при адреналэктомии функция ЕКК повышается [Madden K. S., Livnat S., 1991]. Не исключено, что введение катехоламинов в продуктивную фазу иммунного ответа может приводить к сдвигам исследованных иммунных реакций, существенно отличающихся от описанных [Madden K. S., Livnat S., 1991].

Таким образом, при острой интоксикации токсичным химикатом VX иммуносупрессивные эффекты (за исключением редукции ЕЦ) не связаны с увеличением концентрацией в плазме крови адреналина и норадреналина. Экзогенное введение адреналина и норадреналина в низкой дозе (0,25 мг/кг) вызывает увеличение основных иммунных реакций, а в высокой (2,50 мг/кг) – их уменьшение.

4.5. Специфические и неспецифические механизмы редукции иммунных реакций при интоксикации ФОС

В реализации действия ФОВ существенное значение имеют неспецифические (связанные со стресс-реакцией) и специфические механизмы [Алимова М. Т. и соавт,. 1991; Гущин Н.В. и соавт. 1991, Хусинов А.А. и соавт., 1991; Забродский П.Ф., 1993; 2005]. В настоящее время недостаточно четко определено значение неспецифических и специфических механизмов в развитии нарушений иммунного статуса при действии ФОС.

В связи с этим нами исследовано значение неспецифических и специ-фических механизмов в формировании основных иммунных реакций при действии зарина в опытах на мышах-самцах линии СВА массой 18–22 г. В качестве ФОС применяли зарин (подкожное введение) в дозах 0,25; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$. Исследованные иммунные реакции при действии зарина сравнивали с эффектами иммобилизационного стресса (6 ч) гидрокортизона и ацетилхолина, вводившихся подкожно в дозах соответственно 100 и 5 мг/кг.

Проведенные исследования (табл. 4.10, 4.11) показали, что под влиянием зарина в прямой зависимости от дозы происходит усиление миграции КОЕс из костного мозга (КМ) в селезенку.

Аналогичное действие характерно и для ацетилхолина, а стрессорное воздействие и гидрокортизон вызывают обратный эффект. Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение выхода КОЕс из костного мозга связано с действием ацетилхолина, причем этот специфический эффект при необратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы ФОС преобладает над торможением миграции КОЕс, вызываемым повышением концентрации в крови кортикостерона (неспецифический механизм). Торможение миграции КОЕс из КМ при стимуляции коры надпочечников известно [Петров Р.В. и соавт., 1981]. Вероятно, механизм индукции ацетилхолином миграции СКК аналогичен описанному при изучении подвижности В-лимфоцитов данным медиатором [Адо А.Д. и соавт., 1983].

Т а б л и ц а 4.10

Влияние зарина на основные иммунные реакции, концентрацию кортикостерона в крови и активность α-нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах, ($M \pm m$, n =7-9)

Параметр	Контроль	DL_{50}		
		0,25	0,5	1,0
Число КОЕ в селезенке	8,1±1,45	12,2±2,2	14,7±2,5*	15,6±1,6*
Содержание Т- клеток в тимусе, 10^6	87±8	72±8	51±5*	45±5*
Реакция ГЗТ, %	35,1±1,7	28,1±1,3*	25,0±1,4*	17,1±1,5*
ЕЦ, %	30,3±3,1	24 4±3,4	18,7±2,2*	15,4±2,0*
АЗКЦ, %	10,1±1,2	7,2±0,7*	4,9±1,0*	4,1±0,5*
АОК к ЭБ, 10^3	33,1±3,1	22,4±2,4*	17,2±2,0*	15,0±1,4
АОК к Vi-Ag, 10^3	27,6±2,3	20,0±2,2	18,5±1,7*	16,3±1,8*
Кортикостерон, нг/мл	18,2±1,9	49,7±4,1*	68,5±6,1*	125,8±9,6*
Активность α-нафтилбутиратэстеразы спленоцитов (% положительно окрашенных клеток)	46,1±4,2	31,6±3,2	25,5±3,0*	18,0±2,1

Примечание: * - различия с контролем достоверны - p<0,05.

Таблица 4.11

Влияние иммобилизационного стресса, гидрокортизона (ГК) и ацетилхолина на основные иммунные реакции, концентрацию кортикостерона в крови и активность α-нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах (M±m, n =7-9)

Параметр	Контроль	Стресс	ГК, 100 мг/кг	АХ, 5мг/кг
Число КОЕ в селезенке	9,2±1,5	5,1±1,0*	5,7±1,1*	14,2±1,7*
Содержание Т- клеток в тимусе, 10^6	82±7	52±5*	55±6*	60±6*
Реакция ГЗТ, %	40,5±1,9	28,7±1,4*	31,4±1,5*	44,6±1,6
ЕЦ, %	32,4±4	21±4*	17±5*	27±6
АЗКЦ, %	9,3±1,3	7,9±1,2	8,8±1,6	12,5±1,4
АОК к ЭБ, 10^3	31,2±3,0	17,2±2,9*	20,3±3,1*	43,3±4,2
АОК к Vi-Ag, 10^3	28,3±2,5	18,1±2,8*	17,5±3,2*	41,2±3,9*
Кортикостерон, нг/мл	35,1±3,6	112,5±10,2*	-	41,4±5,5
Активность α-нафтилбутиратэстеразы спленоцитов (% положительно окрашенных клеток)	42,1±4,0	37,2±3,8	46,4±5,1	35,3±4,0

Примечание: * - различия с контролем достоверны - p<0,05.

При увеличении вводимой дозы зарина происходило прямо связанное с ней уменьшение Т-клеток в тимусе. Таким же образом действовали стрессорный фактор, гидрокортизон и ацетилхолин. Вероятно, снижение Т-клеток в тимусе при действии ФОВ связано преимущественно с выходом тимоцитов из органа под влиянием кортикостероидов (неспецифический механизм) и активацией м-холинорецепторов тимоцитов ацетилхолином - специфический эффект [Maslinski W. et al., 1987], и в меньшей степени - с цитотоксическим

действием гормонов коры надпочечников [Heideman M., Bentgson A., 1985].

В экспериментах на крысах Вистар установлено, что при остром отравлении VX (0,5 $ЛД_{50}$) реализуются два специфических противоположных эффекта: ингибирование ацетилхолинэстеразы Т-лимфоцитов, приводящее к супрессии тимусзависимого антителообразования (данный эффект преобладает), и действие ацетилхолина (действие данного медиатора моделировалось введением его в дозе 5 мг/кг двукратно ежедневно в течение 3 сут через 1 сут после иммунизации), вызывающее стимуляцию антителопродукции. В интактных Т-клетках ацетилхолин увеличивает активность ацетилхолинэстеразы. Следует отметить, эффект ацетилхолина зависит от его концентрации в крови, лимфоидных органах и в области холинорецепторов иммунокомпетентных клеток, а также от изучаемого параметра системы иммунитета [Забродский П.Ф. и соавт., 2001]. Результаты проведенных экспериментов дают основание полагать, что, возможно, существует не известная до сих пор функция ацетилхолинэстеразы Т-лимфоцитов, регулирующая их активность не только путем гидролиза избытка ацетилхолина.

Интоксикация зарином и другие исследованные факторы, за исключением ацетилхолина, существенно снижали реакцию ГЗТ. Как показывает анализ изменения содержания кортикостерона в плазме крови под влиянием зарина и стрессорного воздействия, это обусловлено ингибированием исследованной реакции кортикостероидами (неспецифический механизм) и, вероятно, инактивацией эстераз моноцитов и Т-клеток, определяющих формирование ГЗТ (специфический эффект).

При исследовании естественной цитотоксичности (ЕЦ) установлено ее снижение, прямо связанное с дозой ФОВ. Аналогичные эффекты оказывают стрессорное воздействие и гидрокортизон (неспецифический механизм). Подавление активности ЕКК при стрессе и оценка роли при этом ИЛ-2 и интерферона исследовались Г.Т. Сухих и Ф.З. Меерсоном (1985). Необходимо отметить, что данные этой работы позволяют предположить возможность восстановления активности ЕКК как при различных видах стресса, так и при интоксикации ФОВ применением ИЛ-2 или интерферона вследствие наличия общих механизмов, приводящих к формированию иммунодефицитного состояния. Взаимосвязь угнетения ЕЦ с ингибированием α-нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах свидетельствует и о наличии специфического механизма

снижения ЕЦ при интоксикации ФОВ.

АЗКЦ существенно уменьшалась при действии зарина. Супрессия активности показателя была прямо связана с дозой ФОВ, концентрацией в плазме крови кортикостерона и находилась в обратной зависимости от активности эстеразы спленоцитов (специфический эффект). Влияние стресса и гидрокортизона на АЗКЦ не выявлено. Ацетилхолин несущественно увеличивал данный показатель. Анализ вышеизложенного свидетельствует о снижении АЗКЦ вследствие инактивации эстераз К-клеток.

Число АОК в селезенке находилось в обратной зависимости от дозы зарина, концентрации кортикостерона в плазме крови (неспецифический эффект) и было прямо связано с активностью эстеразы в спленоцитах (специфический эффект). Ацетилхолин увеличивал гуморальную иммунную реакцию, вероятно, вследствие механизмов, описанных в работах [Адо А.Д. и соавт., 1983; Maslinski W. et al., 1987]. Обращает на себя внимание большее снижение под влиянием ФОВ Т-зависимого антителообразования (к ЭБ) по сравнению с Т-независимым (к Vi-Ag). Это, видимо, связано с инактивацией эстераз Т-клеток, локализованных преимущественно в этих лимфоцитах [Хейхоу Ф.Г.Дж, Кваглино Д., 1983]. Не выявлено различий в изменении гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам под влиянием стресса и гидрокортизона.

Установлено [Забродский П.Ф., 1993], что под влиянием ДДВФ в прямой зависимости от дозы происходит усиление миграции стволовых кроветворных клеток (СКК) из костного мозга (КМ) в селезенку. Аналогичное действие характерно и для ацетилхолина, а стрессорное воздействие и гидрокортизон вызывают обратный эффект. Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение выхода СКК из КМ связано с действием ацетилхолина, причем этот специфический эффект при необратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы ДДВФ преобладает над торможением миграции СКК, вызываемым повышением концентрации в крови кортикостерона (неспецифический механизм). Торможение миграции СКК из КМ при стимуляции коры надпочечников известно [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981]. Вероятно, механизм индукции ацетилхолином миграции СКК аналогичен описанному при изучении подвижности В-лимфоцитов данным медиатором [Адо А.Д. и соавт., 1983]. При увеличении вводимой дозы ДДВФ происходило прямо связанное с ней уменьшение Т-клеток в тимусе. Таким же образом

действовали стрессорный фактор, гидрокортизон и ацетилхолин.

Вероятно, инволюция тимуса при действии ФОС связана преимущественно с выходом тимоцитов из органа под влиянием кортикостероидов (неспецифический механизм) и активацией м-холинорецепторов тимоцитов ацетилхолином – специфический эффект [Maslinski W. et al., 1983], и в меньшей степени – с цитотоксическим действием гормонов коры надпочечников [Heideman M., Bentgson A., 1985]. Не выявлено различий в изменении гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам под влиянием стресса и гидрокортизона. Значимость неспецифических и специфических эффектов в формировании иммунодефицитного состояния после интоксикации ФОС различна в зависимости от исследуемой иммунной реакции [Забродский П.Ф., 1993].

Снижение Т-клеток в тимусе при действии ФОС зависит как от активации их миграции ацетилхолином, действующим на м-холинорецепторы тимоцитов, так и от эффекта глюкокортикоидов, концентрация которых в крови при действии ФОС увеличивается [Забродский П.Ф., 1993].

При определении вклада иммуносупрессорного эффекта кортикостерона (КС) [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2000] в снижение иммунных реакций при остром отравлении фосфорорганическим инсектицидом метафосом в опытах на беспородных крысах самцах, массой 180-250 г (метафос вводили в растворе оливкового масла внутрижелудочно в дозе 0,8 $ЛД_{50}$ в объеме 0,5 мл), установлено (табл. 4.12), что под влиянием метафоса происходит супрессия исследованных показателей гуморального и клеточного иммунитета.

Таблица 4.12

Влияние метафоса (0,8 $ЛД_{50}$) на гуморальные и клеточные иммунные реакции крыс (M+m, n =7-9)

Показатель	Контроль	Метафос
АОК к ЭБ, 10^3	36,6±4,2	14,1±2,0*
АОК к Vi-Ag, 10^3	27,3±3,4	17,1±2,4*
Реакция ГЗТ, %	25,1±2,3	17,2±1,3*
ЕЦ, %	28,2±4,1	12,5±2,3*
АЗКЦ, %	12,3±1,6	4,4±0,9*

Примечание: * -достоверность различий с контролем р<0,05.

При этом острая интоксикация метафосом вызывает более выраженное снижение иммунных реакций и ЕЦ. Оба исследованных ТХВ в большей степени снижают тимусзависимый гуморальный иммунный ответ, что свидетельствует о редукции синтеза IgM и активности регулирующих этот синтез Th1-лимфоцитов.

При определении концентрации КС в плазме крови крыс при остром отравлении метафосом установлено (табл.4.13) существенное увеличение его концентрации через 2, 12 и 24 ч под влиянием метафоса по сравнению с контролем, изменения которого в исследованный период отражали суточные изменения КС в плазме крови, связанные с изменением активности крыс в различное время суток [Dhabhar F. S et al., 1995].

Таблица 4.13

Концентрация кортикостерона в плазме крови крыс при его подкожном введении и остром отравлении малатионом, нг/мл (M±m, n =5-7)

Вещества		Время исследования после введения, ч		
		2	12	24
Контроль	1	25,1±3,6	191,3±14,8	31,3±2,8
Метафос	2	120,5±10,4	270,0±18,4	48,5±5,2
КС 2мг/кг х 3 4мг/кг х 3	 3 4	 137,6±11,8 275,7±19,3	 241,2±15,6 459,2±20,1	 40,2±4,5 38,5±3,0
Уровень достоверности – p<0,05		1-2, 1-3, 1-4 2-4	1-2, 1-3, 1-4 2-4	1-2

Примечание: КС вводили трехкратно с интервалом 5 ч.

При этом максимальное увеличение концентрации КС (в 4,8 раз) отмечалось через 2 ч. Введение КС вызывало увеличение концентрации этого гормона в крови прямо пропорционально его дозе через 2 и 12 ч. При сравнении содержания КС в плазме крови крыс при остром отравлении метафосом при его экзогенном поступлении в различных дозах установлено, что увеличение концентрации КС под влиянием метафоса приблизительно соответствует трехкратному введению этого гормона в дозе 2 мг/кг.

Введение КС в этой дозе трехкратно с интервалом 5 ч (табл. 4.14) вызывает снижение тимусзависимого антителообразования. Кроме того, под влиянием КС в исследованной дозе значительно снижалась активность ЕКК ($p<0,05$) и несущественно - функция К-клеток ($p>0,05$).

Т а б л и ц а 4.14

Влияние кортикостерона (2 мг/кг трехкратно с интервалом 5 ч) на показатели системы иммунитета (M+m, n =5-7)

Показатели	Контроль	Кортикостерон
АОК к ЭБ, 10^3	31,3±3,7	20,3±2,4*
АОК к Vi-Ag, 10^3	25,5±3,8	27,3±2,2
Реакция ГЗТ, %	28,5±2,7	24,8±2,5
ЕЦ, %	32,3±4,5	20,8±2,9*
АЗКЦ, %	10,1±1,5	7,2±1,7

Примечание: * -достоверность различий с контролем $p<0,05$.

На Т-независимое антителообразование и реакцию ГЗТ исследованная доза КС в индуктивной фазе иммунного ответа влияния практически не оказывала.

Проведенные эксперименты позволяют рассчитать вклад КС в % в реализацию супрессии функции ЕКК и тимусзависимого гуморального иммунного ответа (синтеза IgM) при остром отравлении ФОВ по формуле:

$$\text{Вклад КС} = (1 - \text{ПИО}_{\text{кс}}/\text{ПИО}_{\text{к}})\cdot 100,$$

где $\text{ПИО}_{\text{к}}$, $\text{ПИО}_{\text{кс}}$ - показатели иммунного ответа соответственно в контроле и при действии кортикостерона.

Для оценки вклада иммунотоксических эффектов ФОВ, не связанных с действием КС, в реализацию супрессии иммунных реакции, можно использовать следующую формулу:

$$\text{Вклад ФОС} = [(1 - \text{ПИО}_{\text{м}}/\text{ПИО}_{\text{к}}) - (1 - \text{ПИО}_{\text{кс}}/\text{ПИО}_{\text{к}})] \bullet 100,$$

где $\text{ПИО}_{\text{к}}$, $\text{ПИО}_{\text{м}}$ - показатели иммунного ответа соответственно в контроле и при действии метафоса.

Расчеты показывают, что при остром отравлении метафосом вклад КС в реализацию супрессии функции ЕКК и тимусзависимого гуморального иммунного ответа (синтеза IgM) составляет соответственно 35,6 и 35,1%. Иммунотоксические эффекты метафоса, не связанные с действием КС, обеспечивают снижение функции ЕКК и тимусзависимого гуморального иммунного ответа соответственно на 20,0 и 26,4%.

Полученные результаты свидетельствуют о снижении

гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием острого отравления метафосом, при этом повышение концентрации в плазме крови кортикостерона под влиянием метафоса определяет вклад КС в реализацию супрессии функции ЕКК и тимусзависимого гуморального иммунного ответа (синтеза IgM), составляющий соответственно 35,6 и 35,1%.

Таким образом, изменение иммунного статуса при действии ФОВ связано как с неспецифическим стрессорным влиянием кортикостероидов на отдельные иммунные реакции, так и со специфическими механизмами, к которым следует отнести ингибирование эстераз иммунокомпетентных клеток и действие ацетилхолина. Значимость неспецифических и специфических эффектов в формировании иммунодефицитного состояния после интоксикации ФОВ различна в зависимости от исследуемой иммунной реакции. Наличие ряда общих механизмов возникновения иммуносупрессии при стрессе и интоксикации ФОВ предполагает возможность использования сходных способов фармакологической коррекции нарушений иммунного гомеостаза, вызываемых этими факторами.

Результаты наших исследований подтверждают возможность реализации эффектов ФОС, связанных с неспецифическими (стресс-реакция) и специфическими механизмами.

Роль исследованных иммунных реакций при острой интоксикации ФОС в реализации гуморального и клеточного иммунных ответов различна [Забродский П.Ф., 1995]. Увеличение миграции СКК из костного мозга является фактором, способным снижать реализацию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. Выявленное под влиянием зарина снижение Т-клеток в тимусе, реакции ГЗТ, ЕЦ, АЗКЦ, числа АОК в селезенке и продукции антител к тимуснезависимому Vi-антигену свидетельствует о выраженной супрессии гуморального и клеточного иммунитета.

Полученные нами данные в отношении иммунотоксичности различных доз ФОС (и антихолинэстеразных токсичных химикатов) в условиях эксперимента на животных позволяют заключить, что ФОС вызывает прямо связанную с дозой супрессию основных гуморальных и клеточных иммунных реакций. Наиболее чувствительными к действию ФОС в порядке уменьшения степени поражения являются: естественные клетки-киллеры, К-клетки, тимусзависимый гуморальный иммунный ответ в продуктивной фазе антителогенеза. Основными механизмами нарушения регуляции иммуногенеза и

функции Т- и В-звена иммунитета ФОС, приводящими к постинтоксикационному иммунодефицитному состоянию, являются: изменение перераспределения иммуноцитов между органами системы иммунитета; нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов; ингибирование ацетилхолинэстеразы Т-клеток тимуса и селезенки, а также α-нафтил-AS-ацетатэстеразы и α-нафтил- бутиратэстеразы Т-лимфоцитов; действие на холинорецепторы иммунокомпетентных клеток высоких концентраций ацетилхолина; иммуносупрессивный эффект кортикостероидов.

4.6. Нарушение иммунного статуса у людей после отравления ФОИ

В результате проведенных нами исследований [Забродский П.Ф. и соавт., 1994] было установлено, что острая интоксикация ФОИ средней и тяжелой степени приводит через 7-9 суток к существенному снижению абсолютного количества Т-лимфоцитов в крови, высокоаффинных Т-лимфоцитов, относительного содержания Т-хелперов ($CD4^+$). Относительное содержание $CD8^+$ (выполняющих, вероятно, супрессорную функцию Th3-лимфоцитов) возрастало. Показатели естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности уменьшались соответственно в 1,4 и 1,9 раз. Незначительно снижалась функциональная активность Т-лимфоцитов в реакции бласттрансформации с фитогемагглютинином (ФГА) под влиянием острой интоксикации ФОИ. Отмечалась супрессия синтеза IgG и несущественное повышение IgA. Статистически значимых различий в содержании В-лимфоцитов в циркулирующей крови у отравленных по сравнению со здоровыми лицами того же возраста не отмечалось.

Снижение содержания в крови после острой интоксикации ФОИ может быть связано с лизисом кортизолчувствительной популяции этих клеток в результате значительного увеличения концентрации глюкокортикоидов в плазме крови. Относительное увеличение в крови CD8, вероятно, обусловлено преимущественной миграцией Т-хелперов (CD4) в костный мозг. Не исключено, что проявление Т-клеток с рецепторами супрессоров индуцируется высоким содержанием катехоламинов [Ройт А., 1991], концентрация которых в крови после отравления ФОИ существенно увеличивается [Кузьминская У.А. и соавт., 1980]. Уменьшение естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности может быть

обусловлено ингибированием эстераз ЕКК, а также непосредственным действием ФОИ на Н-холинорецепторы этих клеток [Richman D.P., Arnason B.G.W.. 1979]. Снижение синтеза иммуноглобулинов под влиянием антихолинэстеразных ядов связано с нарушением процессов переработки и представления антигенной информации макрофагами Т-хелперам, кооперации Т- и В-лимфоцитов, снижением активности Т-хелперов и относительным увеличением содержания CD8, способных выполнять супрессорную функцию, нарушением функции В-лимфоцитов [Забродский П.Ф., 1986]. В реализации данных нарушений существенное значение имеют как неспецифические механизмы, связанные с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, действием на лимфоидные органы глюкокортикоидов, нарушением процессов миграции иммунокомпетентных клеток, так и специфические, реализующиеся вследствие значительного увеличения в синапсах лимфоидных органов ацетилхолина, ингибирования фосфорорганическими соединениями эстераз лимфоцитов [Cazale G.P. et al., 1983]. Повышение IgA после интоксикации ФОИ, вероятно, связано с развитием патогенной флоры в легочной ткани [Сильвестров В.П., Эйнер Э.А., 1983], стимулирующей синтез данных антител плазматическими клетками слизистых оболочек бронхов.

Нами совместно с М.Л. Ноделем (2001) проведено исследование основных показателей клеточного иммунитета у людей, получивших отравление различными ФОС тяжелой степени тяжести. Установлено (табл. 4.15), что острая интоксикация ФОС тяжелой степени поражения вызывала снижение числа Т-лимфоцитов, «высокоаффинных» Т-лимфоцитов в крови, реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) с ФГА, характеризующую функцию Т-лимфоцитов, и АЗКЦ через 5 сут. Так, ФОС снижали содержание Т-клеток в крови соответственно в 1,97 раза ($p<0,05$), высокоаффинных Т-лимфоцитов – в 2,12 раза ($p<0,05$), РБТЛ с ФГА – в 1,51 ($p>0,05$), функцию ЕКК, оцениваемую по ЕЦ – в 1,60 раза ($p<0,05$) и АЗКЦ – соответственно в 1,84 раза ($p<0,05$).

Т а б л и ц а 4.15

Влияние острой интоксикации тяжелой степени ФОС через 5 сут на основные показатели Т-системы иммунитета у людей ($M \pm m$)

Серии опытов	Т-клетки, 10^9/л	Высоко-аффиные Т-клетки, 10^9/л	РБТЛ с ФГА, %	ЕЦ, %	АЗКЦ, %

Контроль (25)	1,22±0,12	0,72±0,11	21,5±2,8	35,6±3,7	12,5±1,8
ФОС (11)	0,62±0,15*	0,34±0,11*	14,2±3,5	22,2±4,5*	6,8±2,3*

Примечание: в скобках – число наблюдений; * - различие с контролем достоверно $p<0,05$

Реакция иммунной системы на острое отравление ФОС характеризуется как проявление вторичного постинтоксикационного иммунодефицитного состояния.

Таким образом, острая интоксикация ФОС приводит к иммунодефицитному состоянию у лиц, получивших острые отравления, связанному преимущественно с нарушением Т-системы иммунитета, снижением естественной и антителозависимой цитотоксичности.

4.7. Медикаментозная коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации токсичными химикатами

При разработке способов профилактики и лечения постинтоксикационных иммунодефицитных состояний, сопровождающихся различными инфекционными осложнениями и заболеваниями, важно знать характер модуляции иммунных реакций специфическими средствами терапии острых отравлений ФОС. В связи с этим нами определялось влияние на гуморальный и клеточный иммунные ответы атропина и дипироксима при острой интоксикации VX. Опыты проводили на мышах CBA массой 18-22 г. VX вводили подкожно в дозе 1,0 $ЛД_{50}$. Для изучения влияния атропина и дипироксима на иммунные реакции при остром отравлении VX данные препараты вводили животным после появления тремора и судорог внутрибрюшинно в дозах соответственно 20 и 15 мг/кг (табл. 4.16).

Т а б л и ц а 4.16

Влияние антидотной терапиии на иммунные реакции при острой интоксикации VX в дозе 1,0 LD_{50} (M±m, n=6-14)

Исследованный параметр	Контроль	VX	VX + атропин	VX + дипироксим	p<0,05 в сравниваемых группах
	1	2	3	4	
Число КОЕ в селезенке	10,1±1,9	6,2±1,5*	8,8±2,3	13,1±3,0	1-2
Содержание Т-клеток в тимусе, 10^6	73,3±8,2	32,5±5,1	60,9±6,8	42,5±5,9	1-2; 1-4; 2-3; 2-4; 3-4
Реакция ГЗТ	40,1±1,9	25,6±1,3	21,5±1,8	37,0±2,3	1-2; 1-3;

(прирост массы стопы, мг)					2-4; 3-4
ЕЦ, %	30,1±4,1	10,2±2,3	8,3±2,1	27,0±3,7	1-2; 1-3; 2-4; 3-4
АЗКЦ, %	11,3±1,3	4,5±0,6	3,1±1,0	9,0±1,3	1-2; 1-3; 2-4; 3-4
АОК к ЭБ, 10^3	39,7±4,0	18,2±2,2	10,1±2,3	23,2±2,7	1-2; 1-3; 1-4; 2-4; 3-4

Нами установлено, что под влиянием VX существенно увеличивалось содержание КОЕ в селезенке. Введение после яда антидотов не изменяло характера миграции КОЕс из костного мозга по сравнению с контролем. Холинергическая стимуляция, вызванная ФОВ, приводила к значительному снижению Т-клеток в тимусе. Антидотная терапия атропином острой интоксикации VX отменяла данный эффект. Применение дипироксима при отравлении ДДВФ достоверно снижало действие VX на содержание Т-клеток в тимусе, однако при этом, в отличие от использования атропина, исследованный показатель был значительно меньше контрольного уровня.

Полученные результаты позволяют считать, что увеличение миграции стволовых кроветворных клеток из костного мозга и снижение Т-клеток в тимусе связаны с активацией м-холинореактивных структур. При этом снижение Т-клеток в тимусе зависит как от активации их миграции ацетилхолином, действующим на м-холинорецепторы тимоцитов, так и от эффекта глюкокортикоидов, концентрация которых в крови при действии ФОС увеличивается [Забродский П.Ф., 1993].

Реакция ГЗТ при острой интоксикации VX существенно снижалась, причем применение атропина не восстанавливало ее до контрольного уровня (отмечается даже незначительное увеличение супрессии иммунных реакций). При использовании в качестве антидота дипироксима формирование ГЗТ существенно не отличалось от показателя в контроле. Аналогично изменению ГТЗ при интоксикации VX без применения и с использованием антидотных средств изменялись ЕЦ и АЗКЦ. Можно предположить, что супрессия данных иммунных реакций реализуется путем ингибирования эстераз Т-эффекторов ГЗТ, ЕКК и К-клеток, причем блокирование при этом их м-холинореактивных структур может приводить лишь к некоторому усилению выявленных эффектов, так как атропин снижает формирование ГЗТ и пролиферацию лимфоцитов.

Число АОК в селезенке при действии VX значительно уменьшалось, при использовании в качестве антидота атропина супрессия гуморального иммунного ответа усиливалась. Дипироксим увеличивал число АОК в селезенке по сравнению с показателем в группе с острой интоксикацией без применения антидотных средств, однако данный показатель был все же достоверно ниже, чем в контроле. При исследовании влияния острой интоксикации VX без применения и с применением антидотных препаратов на продукцию антител к тимуснезависимому Vi-антигену установлено, что атропин практически не влияет на формирование постинтоксикационной иммуносупрессии, а дипироксим восстанавливает антителообразование до контрольного уровня. Сопоставляя влияние лечения атропином интоксикации ФОВ на гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому и Т-независимому антигенам, можно заключить, что усиление супрессии гуморальной иммунной реакции атропином при действии VX в отношении тимусзависимого антигена выражено в большей степени. Это свидетельствует о снижении атропином функции Т-хелперов.

Таким образом, после острой интоксикации ФОВ (антихолинэстеразных ТХ) атропин усиливает редукцию иммунных реакций, а дипироксим уменьшает ее. Аналогичные данные получены при антидотной терапии острой интоксикации ДДВФ [Забродский П.Ф., 1995].

В связи с поражением антихолинэстеразными токсикантами ЕКК, К-клеток, функции Т-лимфоцитов, а также Т-зависимого гуморального иммунного ответа, связанного со способностью макрофагов его индуцировать, клеток, участвующих в формирования ГЗТ, Т-активин может являться препаратом выбора при поражении ФОВ [Таранов В.А., Короткова М.И., 1989; Большаков и соавт., 1991].

Учитывая, что иммунодефицитное состояние после интоксикации ФОВ формируется наряду с другими причинами в результате ингибирования АХЭ и других типов эстераз Т-клеток, оправдано применение с целью восстановления функции Т-клеток в комбинации с Т-активином реактиватора холинэстеразы дипироксима [Забродский П.Ф., 1996]. Применение дипироксима показано так же, как эффективного антидота при интоксикации ФОВ [Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Алексеев Г.И. и соавт., 1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998].

Применение нами после острого отравления ФОВ дипироксима в дозе 10 мг/кг 3 раза в течение суток непосредственно после введения зарином, через 2 и 24 ч или Т-активина в дозе 5 мкг/кг ежедневно в течение 3 сут частично восстанавливало основные показатели гуморального и лимфоцитарного (клеточного) иммунитета, а применение данных препаратов комбинированно приводило к полному восстановлению исследованных иммунологических параметров (как при изолированном действии зарина, так и при его комбинации с атропином). Стимуляция Т-активином тимуснезависимого антителообразования при остром отравлении карбофосом обусловлена его действием на макрофаги [Таранов В.А., Короткова М.И., 1989], в результате которого они продуцируют ИЛ-1, являющийся помимо антигена фактором, участвующим в независимом от тимуса антителообразовании [Gillbert K. M. et al., 1985]. Не исключена также активация иммуностимулятором тимуснезависимых Т-лимфоцитами (Tγδ), индуцирующих продукцию В-клеток антител к Vi-Ag [Хаитов Р. М. и соавт., 2000].

Антиоксидантные, иммуностимулирующие, детоксиксикационные, мембраностабизизирующие свойства полиокисидония – ПО [Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005] позволяют предполагать возможность снижения при его применении поражения системы иммунитета различными токсикантами, которые могут приводить к формированию вторичных иммунодефицитных состояний [Забродский П. Ф., 2002].

Нами были проведены эксперименты на беспородных крысах обоего пола [Забродский П. Ф. и соавт., 2006]. Вводили антихолинэстеразные ТХ зарин и VX подкожно в дозе 1,0 DL_{50} (DL_{50} зарина и VX при подкожном введении составляли соответственно 0,21±0,02, 0,018±0,004 мг/кг). После применения ФОВ через 15 мин подкожно вводили атропин (АТ) в дозе 10 мг/кг. Полиоксидоний (ПО) вводили внутримышечно в течение 4 сут в дозе 100 мкг/кг после применения ТХ ежесуточно, однократно.

Нами показано, что под влиянием острого отравления зарином и веществом VX в дозе 1,0 DL_{50} (табл. 4.17) происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену по сравнению с контрольным уровнем соответственно в 2,13 и 2,45 раза ($p<0,05$) и в меньшей степени – к Т-независимому – соответственно в 1,55 и 1,41 раза ($p<0,05$). После действия ТХ отмечалась также существенная редукция АЗКЦ, активности ЕКК и реакции ГЗТ ($p<0,05$).

Т а б л и ц а 4.17

Влияние полиоксидония на показатели системы иммунитета крыс при острой интоксикации антихолинэстеразными токсичными химикатами (1,0 ЛД$_{50}$) и применении антидота атропина (M±m, n =7-12)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	АЗКЦ, %	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	37,2±3,1	28,7±2,5	14,5 ± 1,5	33,3±3,2	36,5±2,4
VX	15,2±1,6*	18,5±1,9*	8,4±1,1*	14,5±2,5*	18,1±2,0*
VX+AT	10,1±1,3*	15,2±1,7*	6,5±1,0*	11,0±2,0*	15,7±1,6*
VX+AT+ПО	30,8±2,9	26,3±2,2	12,1±1,3	29,1±2,9	33,0±2,5
Зарин	17,5±2,0*	20,1±1,8*	9,5±0,9*	18,4±2,5*	19,9± 2,2*
Зарин+AT	12,1±1,7*	17,2±1,5*	6,9±1,1*	14,2±1,8*	16,8±1,8*
Зарин+AT +ПО	31,4±3,0	25,7±2,6	13,0 ± 1,4	30,2±3,0	32,3±2,3

Примечание: * -р<0,05 по сравнению с контролем.

Антидот ФОВ атропин приводил к увеличению супрессии всех исследованных показателей системы иммунитета. Введение ПО вызывало восстановление параметров после острого отравления ТХ и применения атропина практически до контрольных значений.

Токсиканты существенно активировали ПОЛ, значительно снижая активность антиоксидантной системы (АОС – каталазы, пероксидазы) и увеличивая содержание в крови суммарной продукции радикалов (СПР) и малонового диальдегида (табл. 4.18).

Т а б л и ц а 4.18

Влияние полиоксидония на показатели ПОЛ крыс при острой интоксикации антихолинэстеразными токсичными химикатами (1,0 ЛД$_{50}$) и применении антидота атропина через 5 сут (M±m, n =7-12)

Серии опытов	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Суммарная продукция радикалов, усл. ед.	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	277,8±27,3	40,8±3,6	25,4±3,8	5,95±0,36
VX	154,0±15,4*	23,6±2,7*	45,3±4,7*	7,90±0,37*
VX+AT	172,4±18,5*	27,1±2,6*	41,2±4,1*	7,51±0,30*
VX+AT+ПО	245,1±22,7	34,4±3,0	30,1±3,9	6,43±0,31
Зарин	168,7±20,2*	25,2±2,2*	40,9±4,3*	7,88±0,35*
Зарин+AT	150,6±24,1*	29,0±2,5*	37,5±4,0*	7,36±0,40*
Зарин+AT+ПО	251,5±21,0	35,3±3,3	32,6±3,6	6,75±0,41

Примечание: * -р<0,05 по сравнению с контролем.

Применение атропина практически не влияло на данный эффект. Использование полиоксидония приводило к восстановлению показателей практически до контрольных уровней.

Данные литературы позволяют полагать, что уменьшение показателей системы иммунитета под влиянием ФОВ обусловлено ингибированием эстераз Т-клеток, действием кортикостероидов на иммуноциты вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, мебранотоксическим эффектом [Забродский П.Ф., 1998]. Атропин, блокируя м-холинорецепторы, усиливает иммуносупрессивный эффект ФОВ [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2002].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что одним из механизмов снижения параметров системы иммунитета под влиянием ФОВ является инициация ПОЛ (реализация одного из механизмов общей иммунотоксичности ядов). Это подтверждается высокими коэффициентами корреляции (КК) между числом АОК к ЭБ при остром отравлении зарином и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс, которые составляли соответственно $0{,}764 \pm 0{,}157$ ($p<0{,}05$) и $0{,}709 \pm 0{,}188$ ($p<0{,}05$). КК при острых отравлениях VX между ЕЦ и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс были равны $0{,}776 \pm 0{,}150$ и $0{,}759 \pm 0{,}160$ ($p<0{,}05$). Установлена обратная корреляция между числом АОК к ЭБ при остром действии вещества VX и содержанием МДА, значение коэффициента которой составило – $0{,}761 \pm 0{,}159$ ($p<0{,}05$).

ПО практически полностью восстанавливает параметры системы иммунитета и связанные с ними показатели ПОЛ (и АОС) вследствие его антиоксидантных, иммуностимулирующих, детоксиксикационных и мембраностабилизирующих свойств [Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005].

Таким образом, острое отравление токсичными химикатами зарином и веществом VX в дозе 1,0 DL_{50}, а также их действие в комбинации с их антидотом атропином (10 мг/кг) снижает показатели системы иммунитета. Применение полиоксидония в дозе 100 мкг/кг в течение 4 сут (ежедневно, однократно) после острого отравления зарином и веществом VX (1,0 DL_{50}) в комбинации с атропином практически полностью восстанавливает параметры иммунной системы и связанные с ними показатели ПОЛ.

ГЛАВА 5. ИММУНОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ АТРОПИНОПОДОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

5.1. Общая характеристика атропиноподобных препаратов

К атропиноподобным препаратам (АП) относятся алкалоиды растений семейства пасленовых, а также их листья: атропин, скополамин, гомотропина гидрохлорид, листья дурмана и белены и платифиллин. Кроме того, к АП относят синтетические м-холиноблокаторы (метацин, тровентол, пиренцепин и др.), нейропсихотропные препараты, нейролептики, малые транквилизаторы, трициклические антидепрессанты, антигистаминные препараты, анестетики типа кетамина и другие соединения [Крылов С.С. и соавт., 1999].

Лечебное действие и интоксикация этими веществами обладают общими свойствами – они имеют характерные признаки, связанные с их атропиноподобным действием на холинергические механизмы функционирования органов и систем. Это позволило за счет схожести фармакологических и токсикологических эффектов (токсикокинетики и токсикодинамики) объединить их в единую группу средств (лекарственных и отравляющих веществ – психотомиметиков) – группу АП [Крылов С.С. и соавт., 1999]. На наш взгляд, дабы чрезмерно не расширять число веществ, которые могут быть признаны атропиноподобными, к АП следует относить только вещества, влияющие на м-холинорецепторы.

Холинолитики (холиблокаторы) – это вещества, блокирующие действие ацетилхолина (антагонисты медиатора) на м- или н-холинорецепторы или на оба типа рецепторов одновременно. Предупреждают и устраняют эффекты возбуждения холинергической иннервации.

Препараты этой большой и разнообразной группы имеют очень важное значение для медицинской практики. Значительный вклад в их разработку внесли академики АМН СССР С.В. Аничков, М.Д. Машковский, С.Н. Голиков.

Холинолитики избирательно блокируют холинорецепторы в центральной нервной системе (ЦНС) и в соматических тканях, выступая в качестве конкурентных антагонистов ацетилхолина и холиномиметиков.

Физико-химическое сродство большинства холинолитиков к холинорецепторам в сотни и тысячи раз выше, чем у медиатора,

поэтому антагонизм между ними обычно имеет односторонний характер. Захватывая место ацетилхолина на рецепторе, холинолитики препятствуют взаимодействию последнего с медиатором. Однако сами они лишены «внутренней активности» и не вызывают в рецепторах конформационных изменений, которые сопровождаются перемещением через мембрану ионов или включением циклазного механизма. Напротив, предупреждаются такие сдвиги в ответ на воздействие медиатора. Холинолитики обладают высокой или относительной избирательностью действия на разные типы рецепторов, и даже на один и тот же тип, но в разных органах.

С практической точки зрения холиноблокаторы подразделяются на м-холинолитики и м-н-холинолитики с преимущественным действием в области эфферентных окончаний вегетативных волокон – атропиноподобные средства; м-холинолитики с преимущественно центральным действием –центральные холинолитики; н-холинолитики с избирательным действием на ганглии вегетативной иннервации – ганглиолитики, ганглиоблокирующие средства; н-холинолитики с избирательным действием в области окончаний соматических двигательных нервов – миорелаксанты, курареподобные средства [Виноградов В.М. и соавт., 1985].

Мускариновый холинорецептор, выделенный из мозга млекопитающих, представляет собой сложный белок с молекулярной массой 75-89 кД. Белковая часть м-холинорецептора явялется мономером с молекулярной массой в пределах 50-66 кД, которая связана с углеводами, причем содержание последних в общей макромолекуле рецептора достигает 20%. В настоящее время с помощью генетической технологии установлен аминокислотный состав белков четырех подтипов ($м_1$-$м_4$) мускариновых рецепторов, определены места гликозирования этих пептидов, выяснен характер “упаковки” макромолекулы в составе клеточной мембраны, определены вероятные участки, с которыми связываются G-белки, и вероятная локализация анионного участка активного центра рецептора. Однако идентифицировать активный (или узнающий) центр м-холинорецептора пока не удалось, несмотря на широкий размах таких изысканий [Долго-Сабуров В.Б., Шорохов Ю.А., 1989; Крылов С.С. и соавт., 1999].

Препараты этой группы в основном блокируют передачу импульсов с окончаний постганглионарных парасимпатических волокон на клетки исполнительных органов (проводящая система сердца, железы, гладкомышечные волокна полых органов, структуры

глаза и пр.). Тем самым они устраняют избыточные или уравновешивающие влияния парасимпатической иннервации, и начинают функционально преобладать симпатические влияния. Для многих органов они носят мобилизующий, возбуждающий характер, благодаря чему на фоне парасимпатического блока выявляются эффекты стимуляции, которые прямым образом не связаны с действием м-холинолитиков. Эти эффекты тем ярче, чем выше тонус сдерживающих вагусных влияний. И наоборот, выключение парасимпатической иннервации, несущей возбуждающую функцию (секреция желез, моторика полых органов и т.п.), приводит к функциональному покою органа.

Атропиноподобные средства играют очень важную роль в медицинской практике, так как при многих патологических состояниях тонус парасимпатической иннервации избыточно повышен. Эти средства были заимствованы из народной медицины очень давно, и нативные препараты из алкалоидсодержащих растений используются до сих пор (красавка, скополия, белена, дурман и др.).

В начале прошлого века из них были выделены действующие начала –алкалоиды гиосциамин, атропин, скополамин, сейчас применяемые в основном в виде чистых соединений.

В дальнейшем группа м-холинолитиков пополнилась многочисленными синтетическими веществами, причем у части из них м-холинолитические свойства полезно сочетаются с менее выраженным блокирующим действием на н-холинорецепторы в нейронах вегетативных ганглиев, благодаря чему одновременно достигается сильный блок («в двух точках») парасимпатической иннервации и умеренный (в ганглиях) – симпатической. При некоторых патологических состояниях, например при спазмах полых органов, такое сочетание является выгодным [Виноградов В.М. и соавт., 1985].

Способность препаратов преодолевать гематоэнцефалический барьер различна: м- и м-н-холинолитики – четвертичные амины – практически лишены такого действия, тогда как наиболее широко применяемые атропин и скополамин (третичные амины) им обладают.

Центральное действие холинолитиков рассматриваемой группы в основном следует оценивать как побочное. Оно сравнительно невелико при использовании препаратов в средних терапевтических дозах и резко выражено при передозировке (психомоторное возбуждение, галлюциноз и т. п.). Именно на основе их центрального действия создан в США сильный галлюциноген «BZ» — боевое

отравляющее вещество.

Терапевтическое использование центрального действия м-холинолитиков группы атропина (лечение паркинсонизма, предупреждение морской и воздушной болезни, избыточных вестибулярных реакций при болезни Меньера, после операций на органе слуха и т. п.) сейчас ограничено. Причиной этого является не отсутствие терапевтического эффекта, а большое число побочных явлений, обусловленных действием препаратов на соматические органы (тахикардия, сухость во рту, нарушение аккомодации и др.). Тем не менее, однократное назначение скополамина или аэрона с целью профилактики кинетозов оправдано. Для лечения же паркинсонизма специально разработана группа «центральных холинолитиков», которые в малых дозах проявляют также психоседативное действие.

В последние годы в психиатрической практике с успехом начинают специально использовать психотропные свойства атропиноподобных веществ (атропиновый, скополаминовый «шок») при лечении шизофрении [Аничков С.В., 1982; Крылов С.С. и соавт., 1999]. В психиатрии атропин в дозе 80 мг (однократно), вызывающей коматозное состояние, используют для лечения шизофрении. Большая доза атропина, введенного однократно, исключает возникновение делирия и галлюцинаций.

Атропин и сегодня остается одним из основных антидотов в лечении острых отравлений антихолинэстеразными агентами. В этом случае его собственное психотропное действие оказывается стертым, и антагонизм с ядами проявляется как на центральном уровне (подавление тремора, судорог), так и на периферическом. Однако решающее значение имеет все же купирование атропином бронхоспазма, брадикардии и блоков проведения в сердце, секреции желез, спазма полых органов. Для борьбы с судорогами показаны центральные м-н-холинолитики и центральные миорелаксанты. АП высокоэффективны при бронхоспазме нейрогенной природы (повышение тонуса центров блуждающих нервов), при передозировке или отравлении м-холиномиметиками и антихолинэстеразными средствами [Виноградов В.М. и соавт., 1985].

Синтетический холиноблокатор 3-хинуклидилбензилат (BZ) является боевым отравляющим веществом (БОВ) и подлежит уничтожению в странах, подписавших конвенцию о запрещении разработки, производстве, накоплении и применении химического

оружия и его уничтожения. Не исключено использование данного психотропного БОВ (психотомиметика) рядом слаборазвитых стран в качестве химического оружия. Возможно применение BZ для террористических целей. М-холиноблокаторы используются как антидотные средства при интоксикации фосфорорганическими соединениями (необратимыми ингибиторами холинэстеразы) и прямыми м-холиномиметиками. М-холиноблокаторы (атропиноподобные препаратов) могут использоваться в качестве наркотических средств [Крылов С.С. и соавт., 1999].

5.2. Влияние атропиноподобных препаратов на систему иммунитета

Первые публикации, посвященные изучению влияние атропиноподобных препаратов (АП) на иммунные реакции, относятся к 40-50-м годам прошлого столетия. Большинство из этих исследований представляют лишь исторический интерес, поскольку из-за чрезвычайной противоречивости их результатов они не поддаются обобщающему анализу. В экспериментальных работах холиноблокаторы использовались в качестве «фармакологического инструмента» для оценки регуляции функции системы иммунитета под влиянием веществ, оказывающих активирующее влияние на холинорецепторы лимфоидных органов и популяций иммунокомпетентных клеток (ИКК).

При изучении влияния холинотропных препаратов, в частности атропина в дозе 10 мг/кг на содержание субпопуляций Т-лимфоцитов в крови и лимфоидных органах мышей установлено, что через 90 и 150 мин после инъекции данного холиноблокатора в тимусе на 16 и 8% по сравнению с контролем снижается содержание лимфоцитов $CD4^+$ (L3T4) [Techima H. et al., 1991]. По сравнению с содержанием исследованной субпопуляции в органе через 30 мин через 90 и 150 мин она уменьшалась соответственно на 23 и 13% ($p<0,05$), при этом в крови количество лимфоцитов $CD4^+$ увеличивалось на 9% по сравнению с их содержанием в тимусе через 30 мин и по сравнению с контролем ($p<0,05$). В селезенке содержание лимфоцитов $CD4^+$ существенно не изменялось. В данном органе уменьшалось количество лимфоцитов $CD4^+$ на 6% ($p<0,05$) через 90 мин по сравнению с содержанием клеток через 30 мин (по сравнению с контролем отмечалось несущественное снижение лимфоцитов $CD5^+$

(Lyt 1) на 4%. Незначительно, но статистически значимо, под влиянием атропина снижалось количество субпопуляции $CD8^+$ в селезенке (на 10% через 30 и 190 мин по сравнению с контролем). Ацетилхолин (1 мг/кг) уменьшал через 90 мин по сравнению с показателем на 30 мин содержание в тимусе лимфоцитов $CD8^+$ (Lyt 2) на 54% ($p<0,05$), в крови на 5% ($p<0,05$). Через 30 мин в тимусе по сравнению с контролем снижалось содержание субпопуляций Т-клеток $CD4^+$ (L3T4) и ($CD5^+$) Lyt 1 соответственно на 16 и 7% ($p<0,05$). В селезенке по сравнению с контролем на 8% увеличивалось только количество лимфоцитов ($CD5^+$) Lyt 1 ($p<0,05$) [Techima H. et al ., 1991].

Приведенные данные свидетельствуют о довольно сложных механизмах, определяющих миграцию субпопуляций Т-клеток при незначительно превышающей физиологическую концентрацию ацетилхолина и небольшой холиноблокирующей дозе (для мышей) атропина. Ацетилхолин по сравнению с атропином вызывает более выраженное шестидесятиминутное снижение основных субпопуляций Т-лимфоцитов в тимусе вследствие их миграции в циркулирующую кровь. Результаты исследований, полученные H. Techima et al. (1991), в определенной степени могут быть использованы для предположения о действии на Т-лимфоциты тимуса и других лимфоидных органов высоких (сублетальных) концентраций холинергических веществ и, в частности, атропиноподобных препаратов.

Доказано, что при стрессе атропин увеличивает степень лимфопении, а м-холиномиметик ацеклидин ее уменьшает [Дешевой Ю.Б., 1985]. Стимуляция м-холинорецепторов крыс ацеклидином увеличивала, а блокада их атропином задерживала миграцию зрелых костномозговых эозинофилов в кровь. Атропин увеличивал за счет снижения миграции эозинофилов содержание их в костном мозге в 2 раза, а ацеклидин увеличивал выход из костного мозга в кровь на 80% [Дешевой Ю.Б., 1982]. В дальнейшем было доказано, что ацетилхолин в дозах 0,5-2,0 мг/кг (для усиления его эффекта вводили в малой дозе, составляющей 0,05 мг/кг, обратимый ингибитор холинэстеразы прозерин) увеличивал содержание эозинофилов в циркулирующей крови крыс Вистар до 140- 220%, уменьшая их количество в костном мозге на 60%. Атропин (100 мг/кг) отменял эффект ацетилхолина и даже увеличивал содержание эозинофилов в костном мозге (бедреной кости) на 220%, уменьшая их количество в циркулирующей крови до 20%. Автор предполагает и в дальнейшем доказывает, что

выявленный эффект связан с действием ХВ на м-холинорецепторы холинореактивных структур костного мозга или на м-рецепторы эозинофилов, а активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, приводящая к увеличению синтеза и выделения в циркулирующую кровь гормонов надпочечников, не оказывает влияния на выявленные эффекты [Дешевой Ю.Б., 1985], так как у адреналэктомированных крыс отмечалось такое же действие исследованных ХВ [Дешевой Ю.Б., 1984]..

Нами при исследовании числа Т-лимфоцитов в тимусе под влиянием АП установлено (рис. 5.1), что в дозах 0,1 и 0,3 $ЛД_{50}$ атропин и метацин через 1 сут после введения практически не влияют на содержание клеток в этом органе системы иммунитета. Статистически достоверное увеличение показателя ($p<0,05$) происходило при дозе 0,5 $ЛД_{50}$ атропина и метацина соответственно на 37,1 и 31,1%. Существенных отличий показателя при сравнении действия атропина и метацина в эквилетальных дозах выявлено не было.

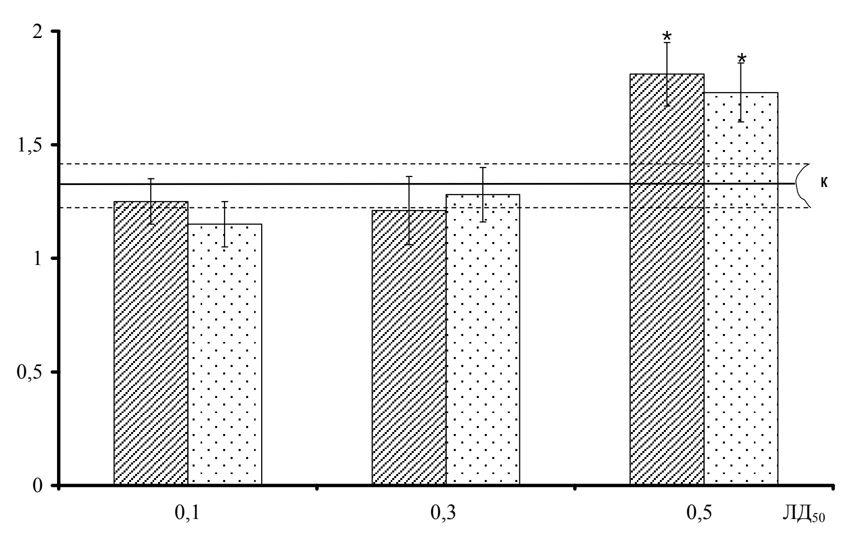


Рис. 5.1. Влияние острого отравления АП на содержание Т-лимфоцитов (10^9) в тимусе через 1 сут ($M \pm m$, n=5-6):

▨ - атропин; ⬚ - метацин;

* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Несколько иная закономерность выявлена при оценке изменения

числа лимфоцитов в селезенке через 2 сут (рис. 5.2). Так, при дозе атропиноподобных препаратов, составляющей 0,5 $ЛД_{50}$, отмечалось не увеличение числа Т-клеток в тимусе, а их снижение при действии атропина и метацина соответственно на 34,1 и 28,6% ($p<0,05$). Статистически значимых отличий показателя при сравнении действия атропина и метацина в эквилетальных дозах выявлено не было.

Через 3 сут влияние атропиноподобных препаратов на содержание Т-лимфоцитов в тимусе выявлено не было (рис. 5.3).

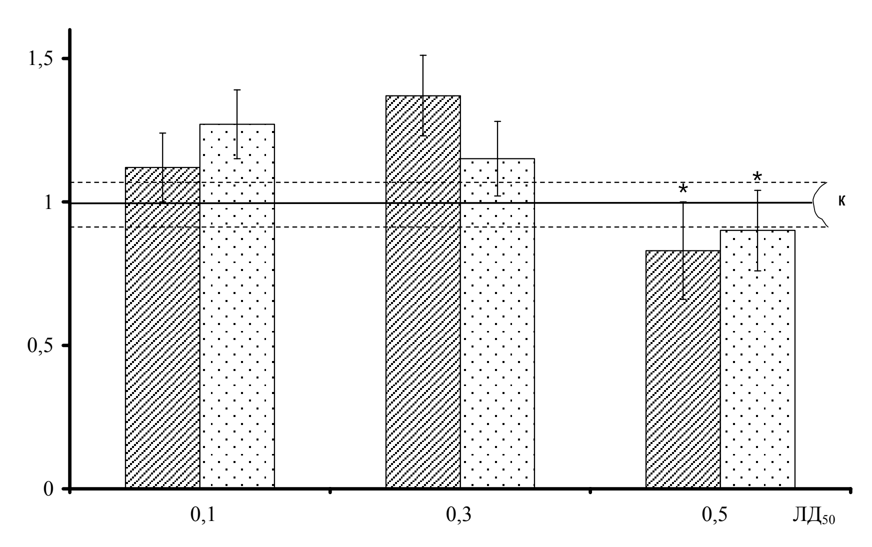


Рис. 5.2. Влияние острого отравления АП на содержание Т-лимфоцитов (10^9) в тимусе через 2 сут ($M \pm m$, n=5-6):
▨ - атропин; ⬚ - метацин; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

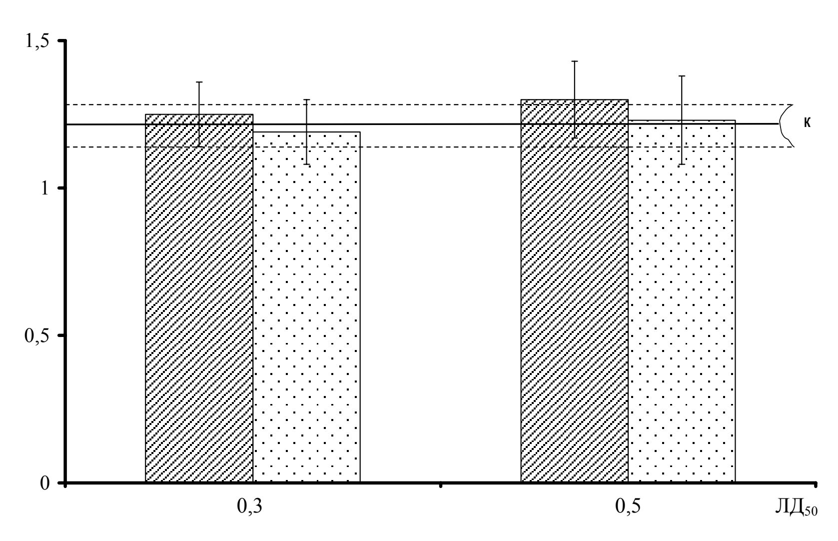


Рис. 5.3. Влияние острого отравления АП на содержание Т-лимфоцитов (10^9) в тимусе через 3 сут (M±m, n=5-6)

Содержание Т-лимфоцитов в тимусе снижают механическая травма [Александров В.Н., 1983] и другие стрессорные воздействия, приводящие к увеличению концентрации кортикостероидов в плазме крови [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б]. Такой же эффект оказывает ацетилхолин (стимуляция м-холинорецепторов тимоцитов), вызывая выход зрелых Т-клеток из тимуса [Maslinski W. et al., 1987]. Доза АП, составляющая 0,5 $ЛД_{50}$, блокируя м-холинорецепторы, приводит к накоплению тимоцитов в вилочковой железе. Снижение Т-клеток в тимусе при максимальной из исследованных доз АП через 2 сут, возможно, обусловлено реализацией апоптоза (запрограммированной гибели клеток) тимоцитов [Хаитов Р.М и соавт., 2000].

При исследовании числа лимфоцитов в селезенке под влиянием АП установлено (рис. 5.4), что в дозах 0,1 и 0,3 $ЛД_{50}$ атропин и метацин через 1 сут после введения практически не влияют на содержание клеток в этом органе системы иммунитета. Статистически достоверное уменьшение показателя ($p<0,05$) происходило при дозе 0,5 $ЛД_{50}$ атропина и метацина соответственно в 26,3 и 24,6%.

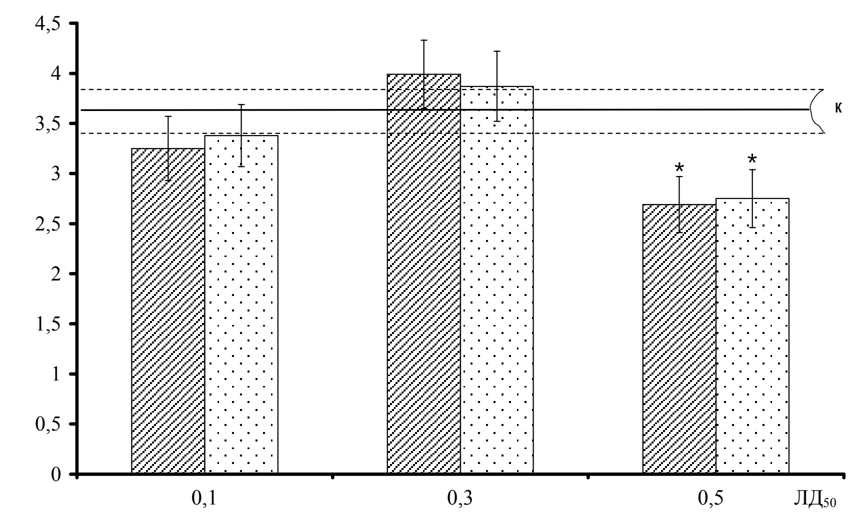


Рис. 5.4. Влияние острого отравления АП на содержание лимфоцитов (10^8) в селезенке через 1 сут (M±m, n=5-6):
- атропин; - метацин; * – различие с контролем достоверно – p<0,05.

Через 2 сут (рис. 5.5) содержание лимфоцитов в селезенке при действии АП в дозах 0,1 и 0,3 $ЛД_{50}$ статистически значимо не изменялось, а дозе 0,5 $ЛД_{50}$ атропин и метацин увеличивали показатель соответственно в 1,26 и 1,29 раза (p<0,05).

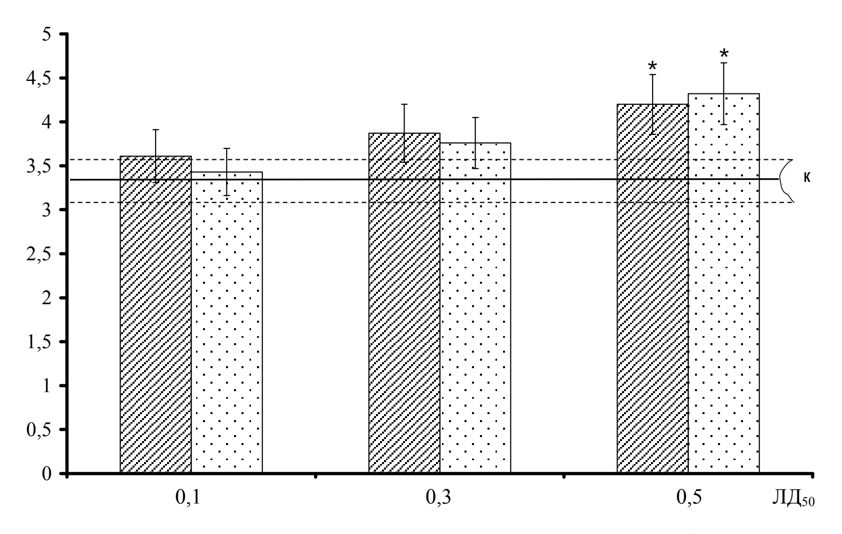


Рис. 5.5. Влияние острого отравления АП на содержание лимфоцитов (10^8) в селезенке через 2 сут (M±m, n=5-6):
▨ - атропин; ⬚ - метацин; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Через 3 сут под влиянием АП в дозах 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ (табл. 5.1) существенных различий в содержании лимфоцитов в селезенке по сравнению с контролем не выявлено.

Т а б л и ц а 5.1.

Влияние острого отравления АП на содержание лимфоцитов (108) в селезенке через 3 сут (M+m, n=5-6)

Доза, $ЛД_{50}$	Атропин	Метацин
Контроль	3,01±0,28	
0,1	3,05±0,31	3,11±0,29
0,3	2,98±0,36	3,23±0,34
0,5	3,22±0,33	2,95±0,28

Таким образом, под влиянием АП в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ через 1 сут содержание лимфоцитов в селезенке уменьшается, а через 2 сут – увеличивается, восстанавливаясь до контрольного уровня через 3 сут. Статистически значимых отличий показателя при сравнении действия атропина и метацина в эквилетальных дозах выявлено не было (отмечается более выраженный эффект атропина при максимальной дозе).

В литературе описано предположение, что блокада м-холинорецепторов тимуса может привести к усилению действия катехоламинов на адренергические рецепторы тимоцитов, увеличивая их запрограммированную гибель (апоптоз) и уменьшая таким образом размер тимуса [Durant S., 1986]. Однако в проведенных нами опытах данное предположение не подтвердилось. Вероятно, этот эффект возможен при дозах, превыщающих 0,5 $ЛД_{50.}$

Снижение лимфоцитов в селезенке при действии АП через 1 сут можно объяснить уменьшением их поступления из тимуса в кровь (и в последующем – в селезенку) вследствие блокирования м-холинореактивных структур вилочковой железы [Maslinski W. et al., 1987]. Через 2 сут после снижения миграции лимфоцитов из тимуса происходит ее компенсаторное увеличение под влиянием восстановленной холинергической иннервации тимуса.

В исследованиях Денисенко П.П. (1980) установлено, что атропин в опытах на мышах в дозе 1 мг/кг и метацин (1 и 2 мг/кг) вызывали снижение антителопродукции к тимусзависимому антигену эритроцитам барана (ЭБ), а в дозах 5 и 10 мг/кг атропин вызывал противоположный эффект. Снижением антителопродукции обладают и центральный м-холинолитик амизил и центральный н- холинолитик педифен [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985].

Преинкубация Ig-несущих В-лимфоцитов с атропином (10^{-6} М) отменяла эффект фосфорилхолина при его действии на В-лимфоциты как здоровых людей, так и больных поллинозом [Адо А.Д. и соавт.,1985].

Меченый ^{3}Н атропин (10^{-3} М) тормозит иммунное розеткообразование (розеткообразующих клеток – РОК - лимфоцитов селезенки и РОК В-лимфоцитов). Это связано с действием атропина на м-холинорецепторы лимфоцитов [Адо А.Д. и соавт., 1985]. В 1995 году Адо А.Д. подвел итог материалам многочисленных исследований его школы, где обобщил влияние макромолекулярных агентов (антигенов) на активность мембран лимфоцитов и соответственно на их способность присоединять ацетилхолин, его аналоги и антагонисты (холиноблокаторы), рассмотрел некоторые вопросы нервной регуляции иммунных и аллергических реакций. С 90-х годов прошлого столетия по настоящее время сформировалось одно из наиболее перспективных направлений на стыке нескольких наук – психонейроиммунология, одной из задач которой является изучение передачи сигналов от нервных к иммунным клеткам (и наоборот) исходя из наличия в нервной и иммунной системе общих медиаторов

и рецепторов к ацетилхолину, норадреналину, дофамину, серотонину и γ-аминомасляной кислоте (ГАМК) [Neveu P.J., Le Moal M., 1990].

В экспериментах in vivo на мышах линии СВА при введении холиноблокаторов за 2 сут до иммунизации и затем на протяжении 6 сут их антителосупрессирующий эффект был подтвержден при изучении образования розеткообразующих клеток в селезенке [Гущин Г.В., Шхинек Э.К., 1979]. Атропин тормозил пролиферацию и дифференцировку антителосинтезирующих клеток и угнетал синтез белковополисахаридных комплексов, максимальный эффект отмечен в продуктивной фазе иммунного ответа на 14-24-е сут [Сырцов В.К. и соавт., 1989].

Нами при исследовании содержания антителообразующих клеток (АОК) в селезенке к ЭБ у крыс Вистар после острой интоксикации АП через 5 сут после иммунизации было установлено (рис. 5.6), что при введении атропина в дозах 0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ одновременно с ЭБ происходит дозозависимое уменьшение числа АОК В 1,25 ($p>0,05$), 1,39 и 1,64 раза ($p<0,05$) соответственно.

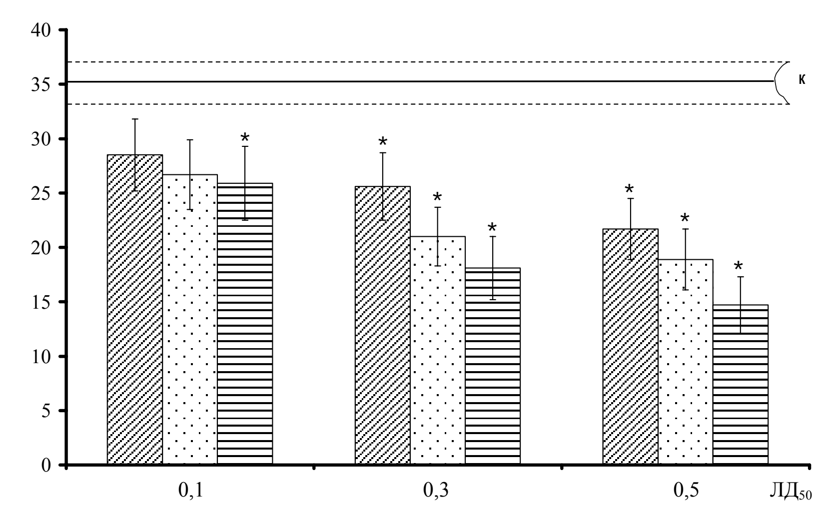


Рис. 5.6. Влияние острого отравления атропином на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана (х 10^3), синтезирующих IgM, в селезенке крыс Вистар через 5 сут после иммунизации ЭБ (M±m, n=5-8).

Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут: ▨ - 0; ⬚ - 1; ☰ - 3;

* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

При введении атропина в дозах 0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ через 1 сут после иммунизации число АОК к ЭБ в селезенке крыс Вистар снижалось

соответственно в 1,33 ($p>0,05$), 1,70 и 1,89 раза ($p<0,05$), а через 3 сут – соответственно в 1,38, 1,97 и 2,43 раза ($p<0,05$).

При остром отравлении метацином в дозах 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ одновременно с иммунизацией происходила супрессия синтеза IgM, оцениваемых по числу АОК в селезенке крыс, соответственно в 1,35 и 1,52 раза ($p<0,05$). При дозе метацина, составляющей 0,1 $ЛД_{50}$, отмечалась тенденция к снижению параметра в 1,22 раза (рис. 5.7). При введении метацина в дозах 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ через 1 сут после иммунизации число АОК к ЭБ в селезенке крыс Вистар снижалось соответственно в 1,47 и 1,78 раза ($p<0,05$). При введении АП через 3 сут после иммунизации отмечалась редукция показателя соответственно в 1,36, 1,78 и 2,12 раза ($p<0,05$). При дозе метацина, составляющей 0,1 $ЛД_{50}$, отмечалась тенденция к снижению АОК в селезенке крыс в 1,28 раза.

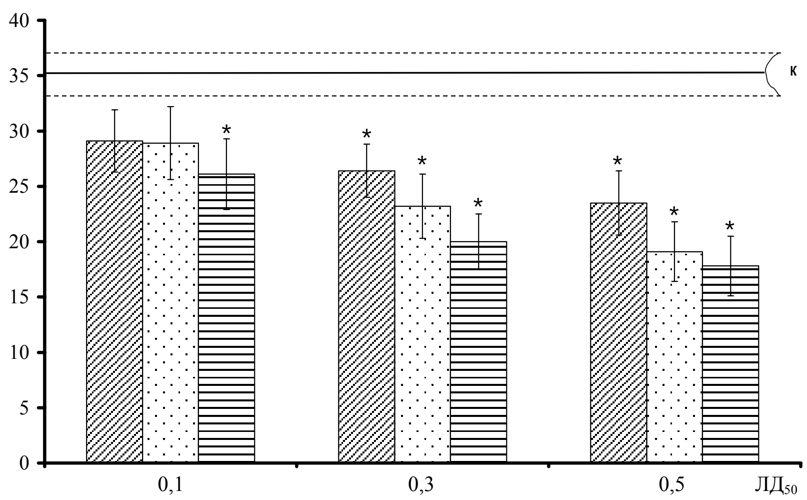


Рис. 5.7. Влияние острого отравления метацином на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана (х 10^3), синтезирующих Ig M, в селезенке крыс Вистар через 5 сут после иммунизации ЭБ (M±m, n=5-8).

Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут: - 0; - 1; - 3;

* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Полученные нами результаты исследований свидетельствует о снижении под влиянием АП функции Th1-лимфоцитов, индуцирующих синтез IgM [Pfeifer C. et al., 1991] В-клетками (плазмоцитами) селезенки, в большей степени в продуктивной фазе

антителогенеза по сравнению с индуктивной.

Эффект атропина по сравнению с метацином в эквилетальных дозах статистически значимо при сравнении изменения соответствующих показателей с использованием t-критерия Стьюдента не отличается, хотя в целом эффект метацина выражен в меньшей степени, чем атропина. Так, при максимальной редукции антителообразования при дозе АП 0,5 $ЛД_{50}$ в продуктивной фазе иммуногенеза число АОК в селезенке крыс составляло при действии атропина и метацина соответственно $14,7 \pm 2,6$ и $17,8 \pm 2,7$ (х 10^3) [$p>0,05$].

Под влиянием острой интоксикации атропином и метацином в дозах, составляющих 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$, происходит дозозависимое снижение тимуснезависимого антителообразования, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag в селезенке через 5 сут, преимущественно в продуктивную фазу антителогенеза (при интоксикации, проводившейся через 3 сут после иммунизации). Действие атропина по сравнению с метацином в эквилетальных дозах статистически значимо не отличается, хотя в целом супрессирующий эффект метацина выражен в меньшей степени, чем атропина.

Полученные нами результаты свидетельствует о снижении атропиноподобными препаратами преимущественно в продуктивной фазе антителогенеза, не связанной с участием в иммунной реакции Th1-лимфоцитов, функции В-лимфоцитов селезенки, синтезирующих IgM, и, возможно, о супрессии синтеза макрофагами ИЛ-1, индуцируюшего тимуснезависимое антителообразование [Sinha A.A. et al., 1987]. Менее выраженное действие АП на Т-независимый антителогенез обусловлено, видимо, наличием на мембране этих лимфоцитов м-холинорецепторов в большем числе, чем на В-клетках [Shapiro H.M., Strom T.B.,1980].

Снижение Т-зависимой антителоподукции под влиянием АП, вероятно, обусловлено редукцией данными препаратами синтеза ряда лимфокинов (BSF-1, активирующего В-клетки, росткового фактора В-клеток – BCGF-II, стимулирующего клональную экспансию активированных клеток, фактора дифференцировки В-клеток μ - BCDFμ, который способствует созреванию клеток с высокой скоростью секреции IgM, BCDFγ, вызывающий переключение синтеза с IgM на IgG и высокую скорость его секреции) [Ройт А., 1993]. АП снижают Т-независимый гуморальный иммунный ответ, супрессируя функцию Tγδ, а также функцию макрофагов [Таранов В.А., Короткова М.И., 1989], приводя к уменьшению ими продукции ИЛ-1 и

последующей редукции Т-независимого антителообразования [Gillbert K. M. et al., 1985]. Не исключено, что АП снижают продукцию иммуноглобулинов, редуцируя процессинг антигена макрофагами, а также синтез лимфокинов BSF-1, BCGF-II, BCDFμ, BCDFγ и BCSF-2. В настоящее время данные лимфокины определяют как цитокины-организаторы лимфоцитарного иммунного ответа (соответственно интерлейкины IL-2, IL-4, IL-12, IL-13, IL-15).

Данные литературы свидетельствуют, что в опытах на мышах in vitro карбохолин в концентрации 10^{-5} М приблизительно на 30% ($p<0{,}05$) снижал формирование АОК к ЭБ, атропин в такой концентрации не оказывал влияния на тимусзависимую гуморальную иммунную реакцию [Rinner I, Schauenstein K., 1991]. Атропин при получении его крысами в дозе 1,2 мг с пищей ежедневно в течение 5 сут в 6 раз ингибировал включение ^{3}Н-тимидина в ДНК спленоцитов, практически не влиял на включение меченого тимидина в тимоциты.

Введение после сублетальной дозы ДДВФ атропина не изменяло характера миграции СКК из костного мозга по сравнению с контролем. Холинергическая стимуляция, вызванная ДДВФ, приводила к значитель-ному снижению Т-клеток в тимусе. Антидотная терапия атропином острой интоксикации ФОС отменяла данный эффект [Забродский П.Ф.,1995].

При исследовании влияния острой интоксикации ФОС на продукцию антител к Т-независимому Vi-антигену установлено [Забродский П.Ф., 1995], что атропин практически не влияет на формирование постинтоксикационной иммуносупрессии. Сопоставляя влияние лечения атропином острой интоксикации ФОС на гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому и Т-независимому антигенам можно заключить, что усиление супрессии гуморальной иммунной реакции атропином при действии ФОС в отношении тимусзависимого антигена выражено в большей степени. Это свидетельствует о снижении атропином функции Т-хелперов.

Таким образом, под влиянием АП происходит прямо связанная с дозой (0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$) редукция преимущественно тимусзависимого антителообразования. Действие АП более выражено в продуктивной фазе иммуногенеза (антителогенеза). Действие атропина по сравнению с метацином в эквилетальных дозах статистически достоверно не отличалось, хотя в целом более выражено.

При изучении нами кооперации Т- и В-лимфоцитов мышей in vitro оценка функции этих популяций иммуноцитов в данной реакции

осуществлялась по формированию АОК к ЭБ . Удельный вес Т- и В-клеток в обеспечении антителопродукции определяли путем сравнения числа АОК после инкубации той или иной популяции лимфоцитов в течение 1 ч с различными концентрациями АП.

В наших исследованиях показано, что атропин в концентрациях 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М уменьшает функцию В-клеток в кооперации с Т-лимфоцитами соответственно в 1,14 ($p>0,05$); в 1,41 и 1,82 раза ($p<0,05$), а функцию Т-клеток - в 1,32, 2,02 и 2,69 ($p<0,05$) раза соответственно. Атропин в большей степени снижает функцию Т-лимфоцитов ($p<0,05$ при концентрациях 10^{-4} и 10^{-3} М).

Аналогичное, но менее выраженное действие на кооперацию Т- и В-лимфоцитов оказывает метацин. Так, метацин в концентрациях 10^{-5} , 10^{-4} и 10^{-3} М снижает функцию В-клеток в кооперации с Т-лимфоцитами соответственно в 1,10 ($p>0,05$); в 1,33 и 1,67 раза ($p<0,05$), а функцию Т-клеток - в 1,20 ($p>0,05$); 1,91 и 2,44 ($p<0,05$) раза соответственно. Полученные данные свидетельствуют, что метацин в большей степени снижает функцию Т-лимфоцитов ($p<0,05$) при концентрациях 10^{-4} и 10^{-3} М.

Эффекты атропина и метацина в эквимолярных концентрациях отличались статистически не значимо. Так, действие атропина превышает влияние метацина на Т-лимфоциты в реализации эффекта кооперации Т- и В-клеток при концентрациях АП 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М соответственно в 1,09; 1,05 и 1,10 раза, а на В-лимфоциты – соответственно в 1,03; 1,06 и 1,09 раза.

По-видимому более выраженное действие АП на Т-клетки связано с наличием на поверхности этих лимфоцитов м-холинорецепторов в большем числе, чем на В-клетках. Это подтверждают исследования H.M. Shapiro и T.B. Strom (1980). Снижение кооперации Т- и В-лимфоцитов может быть обусловлено модуляцией АП антигенсвязывающих рецепторов на поверхности иммуноцитов. О возможности данного эффекта косвенно свидетельствует структурное сходство ацетилхолиновых рецепторов, на которые действуют АП, и антигенсвязывающих рецепторов В-лимфоцитов [Адо А.Д., 1995].

Известно, что атропин in vitro в концентрации 10^{-6} М ингибирует включение ^{3}Н-тимидина в ДНК тимоцитов, а также синтез цГМФ, вызванный ацетилхолином ($5 \cdot 10^{-8}$ М), но не влияет на концентрацию цАМФ [MacManus J.P. et al., 1975].

Таким образом, под влиянием АП in vitro происходит прямо связанное с концентрацией (10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М) снижение кооперации Т- и В-лимфоцитов, вследствие преимущественного нарушения

функции Т-клеток. Эффекты атропина и метацина в эквимолярных концентрациях отличались статистически не значимо, хотя в целом действие атропина на антителопродукцию в модели кооперации иммуноцитов было более выражено.

При исследовании влияния АП на клеточный иммунитет показано, что данные препараты практически не влияют на приживление кожного аллотрансплантата [Денисенко П.П. и Чередниченко Р.П., 1975]. Большие трудности возникают при сопоставлении экспериментов по изучению холинотропных препаратов, в частности, при использовании холинолитиков in vivo и in vitro. Ряд результатов экспериментальных работ противоречит данным других исследований. Так, установлено, что атропин в концентрациях 10^{-11} – 10^{-8} М повышает миграционную активность лейкоцитов, предупреждая отрицательное влияние на нее холиномиметика армина [Барышников И.И., Смирнова О.И., 1981].

Изучение формирования ГЗТ после острой интоксикации АП в модели, не связанной с переносом клеток, позволяет установить их действие на клеточный иммунитет, в частности на функцию Th1 и продукцию ими цитокинов V.St., Albright J.E., 1993], а также на участвующие в реализации гиперчувствительности IV типа Т-клеток памяти и макрофагов [Ройт А., 1991]. В адоптивных реакциях (связанных с переносом клеток) существует возможность оценить действие АП на вторичный клеточный иммунный ответ и формирование Th1-лимфоцитов в селезенке.

Нами в результате экспериментов на крысах линии Август установлено (табл. 5.2), что при острой интоксикации атропином происходит дозозависимое снижение функции Th1-лимфоцитов, оцениваемой по реакции ГЗТ. Так, дозы атропина, составляющие 0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$, вызывали редукцию формирования ГЗТ соответственно в 1,36; 1,54 и 1,98 раза ($p<0,05$).

В локальной адоптивной реакции ГЗТ по сравнению с положительным контролем (с проведением за 4 сут иммунизацией крыс-доноров ЭБ; в отрицательном контроле вместо ЭБ донорам вводили изотонический раствор хлорида натрия) в опытных сериях в прямой зависимости от дозы происходило статистически достоверное ($p<0,05$) снижение исследуемой иммунной реакции. Так, в дозах 0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ атропин снижал локальную ГЗТ, формирующуюся под кожей крыс реципиентов из сенсибилизированных лимфоцитов доноров и ЭБ, соответственно в 1,37; 1,64 и 2,01 раза.

Эксперименты, проведенные с использованием различных доз метацина, показали, что в целом изменения формирования ГЗТ аналогичны

таковым при остром отравлении атропином. Установлена большая активность атропина в эквилетальных дозах по сравнению с метацином ($p>0,05$).

Т а б л и ц а 5.2

Влияние острого отравления атропином на формирование гиперчувствительности замедленного типа у крыс линии Август по приросту массы задней стопы, % (M±m, n=6-7)

Модель	Серии опытов	Доза, $ЛД_{50}$		
		0,1	0,3	0,5
ГЗТ (без переноса клеток)	Контроль	34,0±3,1		
	Опыт	25,0±2,2*	22,1±2,1*	17,2±2,3*
Локальная реакция ГЗТ	Отрицательный контроль	18,3±226		
	Положительный контроль	41,3±2,4		
	Опыт	30,1±2,9*	25,1±2,5*	20,5±2,6*
ГЗТ с переносом спленоцитов после иммунизации	Контроль	85,4±6,8		
	Опыт	61,3±6,0*	52,3±5,7*	45,6±4,9*

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем (или положительным контролем) – $p< 0,05$.

Полученные нами результаты по оценке формирования ГЗТ в различных моделях позволяют заключить, что АП вызывают супрессию Th1-лимфоцитов как в первичном, так и вторичном клеточном иммунном ответе.

Реализация реакции ГЗТ в основном связана с функцией Th1-лимфоцитов [Хаитов Р.М и соавт., 2000]. Полученные нами результаты в определенной степени позволяют полагать, что АП уменьшают способность Th1-лимфоцитов синтезировать γ-интерферон, ИЛ-3 и другие лимфокины, обеспечивающие формирование ГЗТ [Kimber I., 1996].

Таким образом, острая интоксикация АП дозозависимо снижает реакцию ГЗТ, характеризующую как первичный, так и вторичный клеточный иммунный ответ. Существенных отличий в эффектах атропина и метацина на формирование различных реакций ГЗТ не выявлено.

Нами установлено (табл. 5.3), что при действии атропина в дозах 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ АЗКЦ спленоцитов через 3 сут после интоксикации (на 5 сут после иммунизации ЭБ) снижается соответственно в 1,78 и 2,44 раза ($p<0,05$). При дозе, составляющей 0,1 $ЛД_{50}$, атропин вызывал

тенденцию к супрессии АЗКЦ в 1,27 раза. Метацин в дозах 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ уменьшал активность К-клеток соответственно в 1,51 и 2,10 раза ($p<0,05$). При действии метацина в дозе 0,1 $ЛД_{50}$ отмечалась тенденция к редукции показателя в 1,22 раза.

Таблица 5.3

Влияние острого отравления АП на антителозависимую клеточную цитотоксичность через 3 сут, % (M±m, n=5-7)

Доза, $ЛД_{50}$	К-клетки селезенки		К-клетки тимуса	
	Атропин	Метацин	Атропин	Метацин
Контроль	18,3±1,3		10,2±1,1	
0,1	14,4±1,2*	15,0±1,5	8,3±1,4	8,5±1,3
0,3	10,3±1,4*	12,1±1,2*	7,0±1,0*	7,4±1,2*
0,5	7,5±1,1*	8,7±1,4*	5,9±0,8*	6,2±1,0*

Примечание: АП вводили через 3 сут после иммунизации ЭБ; * - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

После острого отравления атропином в дозах 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ АЗКЦ тимоцитов через 3 сут после интоксикации (на 5 сут после иммунизации ЭБ) снижалась соответственно в 1,46 и 1,73 раза ($p<0,05$), а при действиии метацина в тех же дозах - в 1,38 и 1,69 ($p<0,05$) раза соответственно. При дозе, составляющей 0,1 $ЛД_{50}$, атропин и метацин вызывали тенденцию к супрессии АЗКЦ соответственно в 1,23 и 1,20 раза.

Более выраженная редукция АЗКЦ спленоцитов по сравнению с уменьшением активности К-клеток тимоцитов объясняется отсутствием холинергической иннервации в селезенке, за исключением м-холинорецепторов, локализованных на пресинаптических мембранах α-адренергических нервных окончаний [Rinner I, Schauenstein K., 1991]. Учитывая данное обстоятельство, можно предположить, что антагонистичный АП эффект ацетилхолина в селезенке практически не реализуется (возможно действие ацетилхолина, находящегося в циркулирующей крови), что и обусловливает более выраженное действие м-холиноблокаторов на К-клетки спленоцитов.

Таким образом, острое отравление АП (0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$) в прямой зависимости от дозы уменьшало активность К-клеток селезенки и тимуса, оцениваемую по АЗКЦ. Отмечается более выраженная редукция АЗКЦ спленоцитов. Атропин обладал несколько большим, но статистически не значимым супрессирующим эффектом по сравнению с метацином.

При исследовании влияния атропина на ЕКК нами установлено (рис. 5.8), что через 1 сут происходит дозозависимое снижение

активности ЕКК. Так, дозы атропина, составляющие 0,2; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$, вызывали уменьшение активности ЕКК в 1,57; 2,16 и 3,00 раза ($p< 0,05$). Через 3 сут функция ЕКК оставалась достоверно ($p<0,05$) сниженной при дозе атропина, составляющей 0,5 $ЛД_{50}$ в 1,72 раза.. Через 6 сут происходило полное восстановление активности ЕКК.

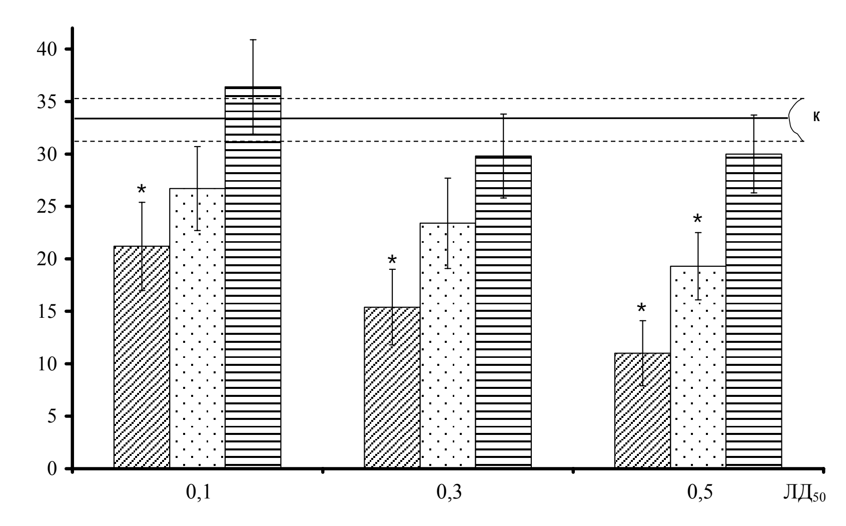


Рис. 5.8. Влияние острого отравления атропином на активность естественных клеток-киллеров у крыс Вистар, % (M±m, n=6-7).
Время после интоксикации, сут: - 1; - 3; - 6;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Острое отравление метацином вызывало аналогичные, но менее выраженные изменения показателя.

Снижение активности ЕКК, так же как и АЗКЦ, под влиянием АП, вероятно, связана со снижением активности в клетках-киллерах цГМФ [Garoroy M.R., 1975].

Таким образом, острое отравление АП в дозах 0,1; 0,3 и 0,5 $ЛД_{50}$ в прямой зависимости от дозы уменьшало активность ЕКК спленоцитов крыс Вистар через 1 сут. При максимальной дозе АП редукция ЕЦ сохранялась до 3 сут. В целом отмечалась более выраженная супрессия функции ЕКК при действии атропина по сравнению с метацином.

При изучении влияния АП на активность ЕКК селезенки (естественную цитотоксичность – ЕЦ – спленоцитов) крыс Вистар in vitro установлено, что при концентрациях атропина, составляющих

10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М, происходит прямо связанное с концентрацией уменьшение активности ЕКК соответственно в 1,20; 1,77 и 2,22 раза ($p<0,05$). При концентрациях метацина 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М происходит прямо связанная с концентрацией редукция активности ЕКК селезенки соответственно в 1,10; 1,61 и 2,57 раза ($p<0,05$). При концентрации АП, составляющей 10^{-5} М, статистически значимых изменений активности ЕЦ спленоцитов не отмечалось. Отличия супрессирующих эффектов атропина и метацина в эквимолярных концентрациях in vitro в отношении функции ЕКК отсутствовали.

Нами установлено [Забродский П.Ф., Сидельникова Н.М. и соавт., 2004], что острая интоксикация веществом BZ в условиях эксперимента на животных в дозах 0,2 - 1,0 $ЛД_{50}$ вызывает супрессию показателей НРО и иммунного гомеостаза. При остром отравлении веществом BZ отмечается супрессия синтеза антител преимущественно к тимусзависимому антигену более выраженная в индуктивной фазе иммуногенеза. Действие вещества BZ in vitro в концентрациях, составляющих 10^{-5}; 10^{-4} и 10^{-3} М, в прямой зависимости от концентрации уменьшало активность естественных клеток-киллеров спленоцитов крыс.

Супрессия активности ЕКК, так же как и АЗКЦ, под влиянием АП, по-видимому, обусловлена снижением активности в клетках-киллерах цГМФ [Garoroy M.R., 1975], учитывая, что данные последних исследований позволяют считать, что ЕЦ и АЗКЦ обеспечивается одними и теми же клетками, отличающимися лишь механизмами реализации киллинга (убийства) клеток-мишеней [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

В настоящее время на ЕКК холинергические рецепторы не обнаружены [Ройт А., 1991; Хаитов Р. М. и соавт., 2000], хотя исключить их наличие на поверхностной мембране этих клеток нельзя, учитывая их возможное происхождение из предшественников Т-клеток [Ройт А., 1991]. Следует отметить, что в использованной модели киллерный эффект зависел не только от ЕКК, но от ПЯЛ, имеющих м-холинорецепторы. Действие АП на активности ЕКК, вероятно, обусловлены блокированием проникновения гранзимов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени (или снижением их синтеза) и нарушением процесса порообразования перфорином [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984], а также индукцией апоптоза [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Kimber I., More M., 1985; Marx J.L., 1986].

Таким образом, действие АП in vitro в концентрациях, составляющих 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М, в прямой зависимости от

концентрации уменьшало активность ЕКК спленоцитов (ЕЦ спленоцитов) крыс Вистар. В эквимолярных концентрациях эффекты атропина и метацина практически не отличались.

Полученные результаты позволяют заключить, что основным механизмом снижения доиммунных механизмов защиты от инфекции (неспецифической резистентности организма) и показателей иммунного статуса при действии атропиноподобными препаратами является блокирование м-холинорецепторов иммуноцитов и м-холинореактивных структур лимфоидных органов, приводящее к снижению миграции колониеобразующих единиц в селезенку, перераспределению лимфоцитов между органами системы иммунитета (и снижению их количества), нарушению кооперации Т - и В-клеток в формировании антителообразования и редукции гуморальных и клеточных иммунных реакций.

5.3. Медикаментозная коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации атропиноподобными препаратами

Несомненно, что при разработке способов профилактики и лечения постинтоксикационного иммунодефицитного состояния, обусловленного действием АП и сопровождающегося различными инфекционными осложнениями, необходимо знать характер модуляции показателей НРО и системы иммунитета антидотом АП аминостигмином, а также возможность коррекции нарушений иммунного гомеостаза иммуностимуляторами.

Нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2005] при оценке влияния антидота BZ аминостигмина (АС) на изменение показателей НРО и системы иммунитета после острого отравления 3-хинуклидилбензилатом (BZ) в экспериментах на неинбредных крысах (BZ вводили подкожно в дозе 1,0 $ЛД_{50}$ - 12,5$\pm$2,9 мг/кг, АС применяли внутрибрюшинно в дозе 0,1 мг/кг 2 раза в сутки) показано, что (табл. 5.4) под влиянием BZ происходило увеличение летальности крыс, снижение $ЛД_{50}$ *E.coli* и Et_{50} ($p<0,05$), а использование АС в качестве антидота статистически значимо ($p<0,05$), снижало супрессию данных показателей.

Т а б л и ц а 5.4

Влияние аминостигмина на НРО при остром отравлении крыс BZ ($M\pm m$, n=15-30)

Показатель	Контроль	BZ	BZ + АС	Уровень достоверности p<0,05

	1	2	3	4
Летальность, %	25,0±9,7	46,7±12,8*	33,3 ± 12,1	1-2, 1-3
LD_{50} *E. coli*, 10^9 микр. тел	2,52±0,18	1,76 ± 0,15	2,00 ± 0,12	1-2, 1-3
Et_{50} ,ч	18,8 ± 1,6	9,4 ± 1,1	13,75 ± 1,8	1-2, 1-3, 2-3
БАСК, %	78,2±3,8	52,3±4,2	60,7±5,0	1-2, 1-3
Лизоцим, мг/л	8,5±1,1	4,8±1,0	5,5±0,9	1-2, 1-3
Индекс активности нейтрофилов (НСТ-тест)	0,38±0,02	0,28±0,02	0,32±0,02	1-2, 1-3, 2-3

Примечание: *- $p<0,05$ по сравнению с контролем при использовании критерия χ^2.

При использовании АС после отравления крыс BZ в дозе 1,0 $ЛД_{50}$ через 3 сут сниженные BZ БАСК, сывороточная активность лизоцима, фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов в НСТ-тесте частично восстанавливались. При этом полного восстановления до контрольных значений значительно сниженных острым действием хинуклидинил-3-бензилата показателей НРО не происходило. Данные параметры оставались более низкими, чем в контроле ($p>0,05$).

Установлено (табл. 5.5), что применение аминостигмина частично восстанавливает гуморальный иммунный ответ к Т-зависимому (ЭБ) и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам при остром отравлении BZ. Так, по сравнению с контролем острая интоксикация BZ снижала число АОК к ЭБ в селезенке крыс на 1,93 раза ($p<0,05$), а применение АС приводило к увеличению показателя в 1,31 раза. При этом он оставался ниже контрольного уровня ($p<0,05$).

Таблица 5.5

Влияние аминостигмина на основные показатели системы иммунитета после острого отравления BZ (1,0 $ЛД_{50}$) (M+m, n=7-12)

Показатель	Контроль	BZ	BZ + АС	Уровень достоверности p<0,05
	1	2	3	4
АОК к ЭБ, 10^3	30,5±2,0	19,9±2,9	29,4 ± 3,0	1-2, 2-3
АОК к Vi-Ag, 10^3	28,9±2,1	19,7±2,2	24,1 ± 2,2	1-2
АЗКЦ, %	12,5 ± 1,4	5,8 ± 1,3	8,7 ± 1,0	1-2, 1-3, 2-3
ЕЦ,%	32,1± 3,1	15,4± 3,4	23,2 ± 2,8	1-2, 1-3, 2-3
ГЗТ, %	33,5±2,0	16,0±2,1	25,8 ± 1,9	1-2, 1-3, 2-3

Острое действие BZ вызывало супрессию Т-независимого антителообразования, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag, в 1,47 раза ($p<0,05$), а АС по сравнению с его значением после интоксикации в 1,22 раза. При этом по сравнению с контрольным уровнем число АОК к Т-независимому антигену в селезенке животных оставалось

сниженным (p>0,05). Полученные данные свидетельствуют о частичном восстановлении Т-независимого антителобразования при применении АС.

Проведенные нами исследования показали, что применение АС частично восстанавливает основные показатели клеточного иммунитета при острой интоксикации BZ. Так, по сравнению с контролем острая интоксикация BZ снижала реакцию ГЗТ, ЕЦ и АЗКЦ соответственно в 2,09; 2,08 и 2,15 раза (p<0,05). При использовании АС реакция ГЗТ, ЕЦ и АЗКЦ по сравнению контролем оставалась сниженной соответственно в 1,30; 1,38 и 1,44 раза (p<0,05).

Механизм снижения супрессии показателей НРО, гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием АС обусловлен восстановлением функции м-холинорецепторов клеток крови ацетилхолином при их блокаде BZ (при обратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы АС), в результате чего, вероятно, восстанавливается нормальное соотношение цГМФ/цАМФ в полиморфноядерных лейкоцитах, моноцитах, макрофагах и иммунокомпетентных клетках. Это приводит к увеличению активации и пролиферации Т- и В-лимфоцитов вследствие увеличения продукции лимфокинов иммуноцитами, в частности ИЛ-2 Th0-клетками [Ройт А. и соавт., 2000; Coffey R. G., Hadden J. W., 1985]. Кроме того, нельзя исключить иммуностимулирующего действия ацетилхолина [Забродский П. Ф., 1996; 1998], а также влияния на реализацию иммунных реакций после острой интоксикации BZ эффектов АС, связанных с изменением состояния нейроэндокринной системы [Забродский П.Ф., 2002].

Можно предположить, что стимуляция обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы АС Т-независимого антителообразования при остром отравлении BZ может быть обусловлена непрямым влиянием антидота на макрофаги [Таранов В.А., Короткова М.И., 1989], в результате которого они вследствие действия ацетилхолина увеличивают продукцию ИЛ-1, являющегося помимо антигена фактором, участвующим в независимой от тимуса антителопродукции [Ройт А. и соавт., 2000; Gilbert R.V., Hoffmann M.K., 1985].

Таким образом, применение после острого отравления BZ (1,0 $ЛД_{50}$) аминостигмина в дозе 0,1 мг/кг (2 раза в сутки) частично восстанавливало основные показатели НРО и системы иммунитета.

В опытах по изучению действия имунофана на В- и Т-звено иммунитета при остром отравлени BZ установлено (табл. 5.6), что

изолированное применение только аминостигмина или иммуностимулятора имунофана частично восстанавливает гуморальный и клеточный иммунный ответ у крыс. Так, по сравнению с контролем, острая интоксикация веществом BZ снижала число АОК к ЭБ в селезенке крыс в 1,93 раза (p<0,05), а применение аминостигмина (АС) или имунофана (ИФ) приводило к увеличению сниженного показателя соответственно в 1,31 и 1,33 раза. При этом он оставался ниже контрольного уровня (p<0,05). Острое действие вещества BZ вызывало супрессию Т-независимого антителообразования, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag, в 1,47 раза (p<0,05), а аминостигмин, имунофан и их комбинированное действие увеличивали параметр по сравнению с его значением после интоксикации в 1,22, 1,28 и 1,54 раза.

Т а б л и ц а 5.6

Влияние имунофана и аминостигмина на показатели системы иммунитета после отравления веществом BZ (M±m, n=7-12)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	ГЗТ, %	ЕЦ, %	АЗКЦ, %
Контроль	38,5±3,1	28,9±2,1	33,5±2,0	32,1± 3,1	12,5 ± 1,4
BZ	19,9±2,9*	19,7±2,2*	16,0±2,1*	15,4± 3,4*	5,8 ± 1,3*
BZ +АС	29,4 ± 3,0*	24,1±2,2	25,8±1,9*	23,2 ± 2,8*	8,7 ± 1,0*
BZ +ИФ	28,9±2,8*	25,3±2,0	26,0±1,8*	25,9 ± 2,6	9,0 ± 0,9*
BZ +АС+ИФ	41,2±3,7	30,3±2,6	35,3±2,2	34,3± 3,3	14,0 ± 1,5

Примечание: *- p<0,05 по сравнению с контролем.

Стимуляция имунофаном Т-независимого антителообразования при остром отравлении веществом BZ может быть обусловлена действием иммуностимулятора как на В-клетки, так и на макрофаги, секретирующие ИЛ-1.

По сравнению с контролем острая интоксикация веществом BZ снижала реакцию ГЗТ, ЕЦ и АЗКЦ соответственно в 2,09; 2,08 и 2,15 раза (p<0,05). Использование только аминостигмина или имунофана приводило к уменьшению реакции ГЗТ по сравнению с контролем соответственно в 1,30 и 1,29 раза (p<0,05). При применении этих же препаратов ЕЦ оставалась сниженной по сравнению с параметрами контрольной группы соответственно в 1,38 раза (p<0,05) и 1,25 раза (p>0,05). Аминостигмин и имунофан при их изолированном использовании сохраняли редукцию АЗКЦ по сравнению с показателями в контроле соответственно в 1,44 и 1,39 раза (p<0,05). Комбинированное воздействие аминостигмина и имунофана

полностью восстанавливало основные показатели гуморального и клеточного иммунитета после острого отравления веществом BZ в дозе 1,0 $ЛД_{50}$.

Механизм снижения супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций аминостигмином обусловлен иммуностимулирующим (иммунопротективным) эффектом ацетилхолина (при обратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы аминостигмином). Вследствие этого восстанавливается нормальное соотношение цГМФ/цАМФ в иммунокомпетентных клетках. Это приводит к увеличению активации и пролиферации Т - и В-лимфоцитов вследствие увеличения продукции лимфокинов иммуноцитов, в частности, ИЛ-2 Т-клетками. Нельзя исключить влияние на реализацию иммунных реакций после острой интоксикации веществом BZ эффекты аминостигмина, связанные с изменением состояния нейроэндокринной системы [Забродский П. Ф., 1998, 2002].

Таким образом, применение после острого отравления веществом BZ (1,0 $ЛД_{50}$) имунофана (10 мкг/кг ежедневно в течение 3 сут) в комбинации с аминостигмином (0,1 мг/кг 2 раза в первые сутки) восстанавливало основные показатели гуморального и клеточного иммунитета.

***

Подводя итог данной главе, можно заключить, что острая интоксикация м-холиноблокаторами в условиях эксперимента на животных в сублетальных дозах вызывает супрессию основных гуморальных и клеточных иммунных реакций. При остром отравлении АП отмечается супрессия антителообразования преимущественно к тимусзависимому антигену более выраженная в продуктивной фазе иммуногенеза. Действие атропиноподобных препаратов in vitro в концентрациях, составляющих 10^{-5}; 10^{-4} и 10^{-3} М, в прямой зависимости от концентрации уменьшает активность ЕКК. Основным механизмом нарушения регуляции иммуногенеза при действии АП является блокирование м-холинорецепторов иммуноцитов и м-холинореактивных структур лимфоидных органов, приводящее к снижению миграции колониеобразующих единиц в селезенку; перераспределение лимфоцитов между органами системы иммунитета; нарушение кооперации Т- и В-клеток в формировании антителообразования, редукции гуморального и клеточного

иммунного ответа. Применение после острого отравления BZ (1,0 $ЛД_{50}$) аминостигмина в дозе 0,1 мг/кг (2 раза в сутки) частично восстанавливает показатели НРО и системы иммунитета, а комбинация его с имунофаном (10 мкг/кг ежедневно в течение 3 сут) полностью восстанавливает иммунные реакции.

ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ТОКСИЧНЫХ ХИМИКАТОВ КОЖНО-НАРЫВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Как уже упоминалось, позитивные шаги международного сообщества в области ликвидации и полного запрета химического оружия (ХО) не уменьшили реальность его использования в террористических и криминальных целях, а также [Забродский П.Ф., 2002; Saladi R.N. et al., 2006], при определенных обстоятельствах в локальных вооруженных конфликтах [Saladi R.N. et al., 2006]. Кроме того, существует возможность возникновения аварийных ситуаций в процессе уничтожения ХО, которые могут сопровождаться выбросом в окружающую среду сернистого иприта, люизита, продуктов их деструкции и приводить к поражению людей [Петров А.П. и соавт. 2004].

В настоящее время за рубежом активно ведутся разработки поиски высокоэффективных антидотных средств при поражении сернистым ипритом и люизитом. Из ТХ кожно-нарывного действия иприт широко принялся в период Первой мировой войны и 10 локальных вооруженных конфликтов XX столетия [Saladi R.N. et al., 2006], в частности в Ирано-Иракском конфликте [Balali-Moode M., et al., 2005]. В настоящее время за рубежом активно ведутся разработки высокоэффективных терапевтических (антидотных) средств при поражении «везикантами» [Amitai G. et al., 2006], исследуются биомаркеры для дифферинциальной диагностики между поражением кожи сернистым ипритом или люизитом [Arroyo C.M. et al.,2004], изучаются отдаленные эффекты поражения сернистым ипритом [Saladi R.N. et al., 2006].

6.1. Токсикологическая характеристика и иммунотоксические свойства люизита и продуктов его деструкции

Люизит (β-хлорвинилдихлорарсин ($ClCH=CHAsCl_2$) относится к отравляющим веществам кожно-резорбтивного, общетоксического и удушающего действия, является производным алкилмышьяковистой кислоты. Синтезирован в 1917 году американским химиком У. Ли Льюисом и независимо от него немецким химиком Г. Виландом.

Свежеперегнанный люизит (чистый β-хлорвинилдихлорарсин) представляет собой бесцветную жидкость, почти не имеющую запаха. Через некоторое время он приобретает фиолетовую или темно-красную окраску [Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990].

Люизит, который может быть использован с военными целями и подлежит уничтожению, является техническим люизитом, представляющим собой смесь мышьякорганических соединений (α-; β-; γ-люизитов) и треххлористого мышьяка. Содержание α-люизита (2-хлорвинилдихлорарсин) составляет 65%, β- люизита[бис(2-хлорвинил)хлорарсин]-7-10%, γ-люизита [трис(2-хлорвинил)арсин]-4-12%. В свою очередь, α-люизит существует в форме двух пространственных изомеров, различающихся физическими свойствами, (цис-изомер – 10%, наиболее токсичный транс-изомер – 90%). Технический люизит представляет собой темно-бурую маслянистую жидкость со своеобразным запахом, напоминающим запах листьев герани. Температура кипения +196,4 ^{0}C, температура замерзания –44,7 ^{0}C. Относительная плотность паров люизита по воздуху равна 7,2. Плотность люизита 1,92. Люизит плохо растворим в воде (не более 0,05%), хорошо растворяется в органических растворителях, в жирах, смазках, впитывается в резину, лакокрасочные покрытия, пористые материалы. Он смешивается со многими отравляющими веществами и сам растворяет их, поэтому может использоваться в качестве компонента тактических смесей [Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990; Щербаков А.А. и соавт., 2002].

Люизит, а также органические и неорганические соединения мышьяка могут проникать через кожу и слизистые оболочки, дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, раневые и ожоговые поверхности, при парентеральном введении. Является отравляющим веществом быстрого действия (скрытый период практически отсутствует). Минимальная эффективная концентрация паров, вызывающая раздражение кожи у человека, находится в пределах 0,06-0,33 мг/л, газообразный люизит при концентрации 10 мг/л вызывает образование пузырей при экспозиции 15 мин, крупные пузыри образуются при плотности заражения 4-5 г/м^2, смертельная доза при попадании на кожу 25 мг/кг. В парообразном состоянии уже в концентрации 0,002 г/м^3 вызывает резкое раздражение глаз; непереносимая концентрация люизита, раздражающая верхние дыхательные пути – $2 \cdot 10^{-2}$ мг/л; вдыхание его в концентрации 0,05 мг/л приводит к развитию интоксикации, концентрация 0,5 мг/л за 5 мин и 0,25 мг/л за 15 мин является смертельной. При попадании его в желудочно-кишечный тракт смертельная доза для человека составляет 5-10 мг/кг. Высокие концентрации люизита могут вызвать смерть сразу или в течение 10 мин. Смертельная доза растворимых

соединений мышьяка 0,1-0,2 г. [Давыдова В.И., 1989; Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990].

Токсичность люизита связана с ацилирующей способностью его отдельных компонентов по отношению к нуклеофильным радикалам [Саватеев Н.В., 1987; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Куценко С.А., 2004]. α-люизит, являющийся кожно-нарывным отравляющим веществом со значительным общеядовитым действием, вызывает раздражение слизистых оболочек носа, гортани, дыхательных путей, поражает глаза. β-люизит гораздо слабее по действию на кожу, но раздражающий характер выражен значительно сильнее. α- и β-люизиты являются сложными соединениями со смешанными функциями. Реакционная способность данных соединений определяется своеобразным распределением электронной плотности в их молекулах. Наличие положительного поляризованного атома мышьяка обусловливает возможность осуществления реакций с нуклеофильными реагентами, в то же время наличие неподеленной пары электронов на атоме мышьяка указывает на способность этих соединений вступать в реакции с электрофильными реагентами [Владимиров В.А. и соавт., 1989].

Предполагается, что люизит в организме превращается в оксид (β-хлорвиниларсиноксид, ClCH=CHAs=O), сульфид (ClCH=CHAs=S) или другие мышьяксодержащие вещества. Наибольшее значение в механизме токсического действия придают хлорвиниларсиноксиду как наиболее устойчивому метаболиту. Высокая биологическая активность этого соединения обусловлена наличием в его молекуле трехвалентного мышьяка. Хлорвиниларсиноксид по токсичности не уступает люизиту, его $ЛД_{50}$ для мышей составляет 5 мг/кг [Саватеев Н.В., 1987; Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990; Бадюгин И.С. и соавт., 1992].

Известно, что арсениты (As^{3+}) являются тиоловыми ядами, ингибирующими различные ферменты (холинэстеразу, амилазу, липазу, алкогольдегидрогеназу, пируватоксидазу, аденозинтрифосфатазу и другие), участвующие в обмене АТФ [Владимиров В.А. и соавт., 1989; Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Саватеев Н.В., 1987].

Люизит и другие производные трехвалентного мышьяка в организме вступают во взаимодействие со структурными и ферментными белками, присутствующими в биосредах, содержащими SH-группы. Предполагается два возможных типа реакций. Во-первых, реакции монотиолов с соединениями трехвалентного мышьяка, в

которых образуются гидролизующиеся моно- и дитиоарсениты. Во-вторых, дитиолы реагируют с арсеноксидами или арсенитом с образованием циклических дитиоарсенитов, которые значительно стабильнее, чем моно- и дитиоарсениты, возникающие при реакции с монотиолами. Особенно стабильны пятичленные кольца, возникающие при взаимодействии соединений мышьяка с 1,2-дитиолами (смежными дитиолами) [Саватеев Н.В., 1987; Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989, Трахтенберг И.М., Шафран Л.М., 2002]

Арсенит (метаарсанит) натрия способен энергично реагировать с тиоловыми группами, особенно дитиолами (например, с липоевой кислотой). Блокируя окислительные ферменты, зависящие от липоевой кислоты, арсенит способствует накоплению пирувата и других α-кетокислот в тканях. Через 5 и 150 минут после внутривенного введения арсенита натрия новозеландским кроликам в дозе 7 мг/кг ($ЛД_{100}$) активность пируватдегидрогеназного комплекса возрастала с 0,088 до 0,2888 и 0,33 ммоль/л соответственно. Среднелетальные дозы арсенита натрия для крыс при пероральном и накожном поступлении составляют соответственно 41 и 150 мг/кг, для мышей при внутрибрюшинном введении и нанесении на кожу соответственно – 5 и 12–18 мг/кг, $ЛД_{100}$ при поступлении в желудок – 19 мг/кг [Давыдова В.И., 1989].

Торможение некоторых ферментов (сукцинатдегидрогеназы, альдегиддегидрогеназы, глутаминсинтетазы, тиолтрансацетилазы, люциферазы, ацетил-КоА-карбоксилазы) арсенитом резко усиливается в присутствии моно- и дитиолов. Вероятно, роль тиола состоит в восстановлении дисульфидной группы белка в сближенных сульфидных группах, реагирующих с арсенитом. Высокое сродство трехвалентного мышьяка к животным тканям может быть объяснено большой скоростью взаимодействия его с тиоловыми соединениями. Например, при реакции арсенита с цистеином $k_1=1{,}37 \cdot 10^{-2}$ $с^{-1}$ и $k_{1/2}=52$ с [Ершов Ю.А., ПлетеневаТ.В., 1989], с дитиолами скорость реакции выше [Торчинский Ю.М., 1977].

Образование циклических соединений может произойти в том случае, если в молекуле фермента сульфгидрильные группы находятся на двух соседних атомах углеводородной цепи (положения 1,2) или через один атом (положение 1,3). Такое расположение SH-группы имеют компоненты димеркаптосодержащей ферментной системы окисления пировиноградной кислоты – пируватоксидазы. Пируватоксидаза – это сложный ферментный комплекс, состоящий из трех ферментных систем и пяти коферментов. В присутствии

пируватоксидазной ферментной системы осуществляется безкислородное расщепление глюкозы через глюкозо-6-фосфат до пировиноградной кислоты, которая подвергается окислительному декарбоксилированию. Этот процесс включает расщепление кетокислот с образованием углекислого газа и присоединение остающейся ацильной группы к коферменту А. Процесс характеризуется участием двух мишеней действия арсенита-кофермента-А и липоевой кислоты, содержащих тиоловые группы [Ленинджер А., 1974; Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990].

В процессе окисления пировиноградной кислоты, дисульфид-6,8-дитиооктановой кислоты (липоевой кислоты) восстанавливается до 6,8-дитиооктановой кислоты (циклический меркаптид) - восстановленная форма фермента, которая и подвергается ацилированию люизитом или его метаболитами. Таким образом, фермент исключается из участия в окислительно-восстановительных процессах. Это приводит к нарушению синтеза лимонной и щавелево-уксусной кислоты (концентрация пирувата и лактата в клетке является отражением окислительных процессов в клетке), в которой нарушаются процессы усвоения метаболического топлива на стадии анаэробного окисления пировиноградной кислоты. Поврежденная клетка прекращает усваивать жиры, белки, углеводы и другие виды метаболического топлива, что приводит к ее гибели [Ленинджер А., 1974; Диксон М., Уэбб Э., 1982; Страйер Л., 1985; Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990].

Трехвалентный мышьяк влияет на митоз, синтез и распаривание ДНК. При этом механизм токсического действия преимущественно связан с блокированием тиоловых групп ДНК-полимеразы [Давыдова В.И., 1989; Трахтенберг И.М., Шафран Л.М., 2002].

Таким образом, неорганические соединения трехвалентного мышьяка, как и их элементоорганические производные, блокируют SH-группы различных биосоединений, вызывая ингибирование ряда тиолзависимых ферментных систем в различных тканях (Д-аминокислотоксидаза, моноаминоксидаза, уреаза, глюкозооксидаза, холиноксидаза, пируватоксидаза, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, 2-глутаминокислот-оксидаза, фумараза, пируватдегидрогеназа, ксантиноксидаза, ДНК активированная АТФаза и др.).

При массивном поступлении мышьяка сам элемент, обладая высокой токсичностью, прямо действует на органы и ткани. Избыток мышьяка вызывает вторичный дисбаланс элементов. Так, замещая

фосфор в различных биохимических реакциях фосфорилирования, он приводит к образованию нестабильного АДФ, предшественника АТФ, путем арсенилирования, являясь разобщителем фосфорилирования и окисления, в результате чего происходит нарушение тканевого дыхания и снижение энергетических ресурсов клетки. Наряду с этим мышьяк усиливает эффекты прооксидантной системы, образуя мышьяковистый радикал или действуя косвенным путем через дисбаланс микроэлементов и ослабляя антиоксидантную систему защиты. Высказано предположение, что замещение фосфора мышьяком в ДНК приводит к нарушению хроматинного материала [Давыдова В.И., 1989; Скальная М.Г. и соавт., 1995].

Гидролазы (в том числе холинэстеразы), а так же холинорецепторы, содержащие SH-группы, могут повреждаться при проникновении в ткани люизита и соединений трехвалентного мышьяка [Давыдова В.И., 1989; Трахтенберг И.М., Шафран Л.М., 2002].

Симптоматика общетоксических проявлений при остром отравлении люизитом прежде всего связана с тяжелыми поражениями центральной нервной системы (после кратковременного возбуждения, обусловленного болевой импульсацией, развитие глубокой апатии, адинамии, депрессии), вегетативных отделов нервной системы (тошнота, рвота, общая гипер-, или гипотермия, глубокая прогрессирующая гипотония, гипотрофия), аппарата кровообращения (первичный коллапс, экзотоксический шок, токсический миокардит и миокардиодистрофия, острая сердечная недостаточность) [Саватеев Н.В., 1987; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989; 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998]. Местное действие люизита обусловлено ацилированием белков кожных покровов и тканей [Саватеев Н.В., 1978; Лудевиг Р., Лос К.,1983].

Рассмотрение иммунотоксичности люизита представляет интерес не только в связи с его уничтожением. Данное вещество относится к наиболее токсичным соединениям трехвалентного мышьяка. Острые и хронические интоксикации данными соединениями могут происходить при их применении в различных областях промышленности, получении и использовании пестицидов, содержащих его лекарственных средств, употреблении пищи и воды, содержащих данный элемент, вдыхании его соединений в производственных условиях, при действии на человека продуктов уничтожении кожно-нарывных ТХ. В большинстве продуктов

присутствие мышьяка объясняется широким использованием его соединений (мышьяковистый ангидрид, мышьяковистый кальций, мышьяковистокислый натрий, парижская зелень и др.), обладающих высокой биологической активностью, в сельскохозяйственной химии в качестве родентицидов, инсектицидов, фунгицидов, древесных консервантов и стерилизаторов почвы. Мышьяк применяют в производстве стекла, красителей, полупроводников [Ершов Ю.А. и соавт., 1989].

Различные соединения мышьяка, в частности арсенит натрия, индуцируют бластомогенные процессы. Эпидемиологически показана связь между воздействием мышьяка и повышенной заболеваемостью человека раком кожи, респираторной, лимфатической и гемопоэтической систем, желудочно-кишечного тракта. Имеются работы, подтверждающие канцерогенную опасность мышьяка в опытах на животных [Давыдова В.И., 1989; Скальная М.Г. и соавт., 1995; Трахтенберг И.М., Шафран Л.М., 2002].

Острое отравления арсенитом натрия вызывает сонливость, ослабление дыхания, саливацию, диарею, непроизвольное мочеиспускание, уменьшение диуреза, выделение мочи с примесью крови, желтушность склер, тремор, нарушение терморегуляции, координации движений, параличи, судороги. [Давыдова В.И., 1989].

Таким образом, люизит и арсенит натрия, ингибируя, кроме моно- и дитиоловых ферментов, гидролазы, оксидазы, энзимы, определяющие пуриновый обмен и синтез АТФ, вызывают при острой интоксикации поражение практически всех органов и систем организма.

Как уже указывалось, люизит и арсенит натрия являются тиоловыми ядами, ингибируют дегидролипоевую кислоту, кофермент А, нарушая цикл трикарбоновых кислот. Инактивация кетоглутаратдегидрогеназы приводит к нарушению синтеза лимонной и щавелево-уксусной кислот, а блокирование ДНК-полимеразы - к изменению синтеза и распаривания ДНК. Токсические и иммунотоксические эффекты соединений мышьяка связаны также с ингибированием моноаминооксидазы, уреазы, пируватоксидазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, фумаразы. Мышьяк контактирует с фосфатами в процессе окислительного фосфорилирования, нарушает образование АТФ из АДФ, являясь разобщителем фосфорилирования и окисления [Давыдова В.И., 1989; Скальная М.Г. и соавт. 1995; Трахтенберг И.М., Шафран Л.М., 2002].

Не вызывает сомнения, что описанные механизмы токсичности способны вызывать выраженные иммунотоксические эффекты.

Вероятно, эти эффекты определяют канцерогенные свойства соединений мышьяка [McCabe M.J. et al., 1983]. В опытах на мышах установлено снижение Т-зависимого первичного и вторичного иммунных ответов в 2-5 раз к эритроцитам барана при хронической пероральной интоксикации мышьяком (поступление мышьяковистого натрия в течение трех недель в дозах от 0,5 до 10 ppm) [Blackley B.R. et al., 1980]. Арсениты при концентрации 2-4 мМ увеличивают пролиферацию Т-клеток теленка под влиянием фетогемагглютинина (ФГА) (инкубация 3 сут) и снижают данную реакцию при концентрациях 8 и 10 мМ. Аналогичные данные получены и на Т-лимфоцитах человека [McCabe M.J. et al., 1983].

Установлено снижение антиинфекционной и противоопухолевой резистентности при острой и хронической интоксикации соединениями мышьяка мышей различных линий [Gainer I.H., 1972]. Мышьяковистый галлий (2,5-200 мг/кг, однократно) уменьшает число антителообразующих клеток (АОК) к эритроцитам барана в селезенке мышей [Burns L.A. et al., 1991; 1993], ослабляется способность к презентации антигена премированными эритроцитами барана макрофагами популяции Т-клеток. При этом супрессия антителообразования не связана с процессингом антигена макрофагами и продукцией этими клетками ИЛ-1 [Sikorski E.E. et al., 1991б]. Снижение АОК к тимуснезависимому антигену динитрофенил-фиколлу наблюдали при введении мышьяковистого галлия в дозах 100-200 мг/кг. При этом максимальная доза снижала число АОК в селезенке на 54%, а также число Т-клеток, В-лимфоцитов и макрофагов. Супрессия антителообразования была прямо связана с уменьшением количества макрофагов в селезенке мышей [Sikorski E.E. et al., 1991а].

А.В. Горшенин (1998) показал, что люизит обладает выраженным иммунотоксическим действием с преимущественным поражением клеточного звена иммунной системы. Автор установил, что люизит (а также ипритно-люизитная смесь) вызывают различное изменение соотношения основных популяций и субпопуляций лимфоцитов – Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров – в крови экспериментальных животных (крыс и мышей). Оценивая экспериментальные данные о влиянии ОВ кожно-нарывного действия на популяционный состав лимфоцитов лабораторных животных, автор отмечает, что основной точкой приложения токсического действия люизита на клеточное звено иммунной системы являются регуляторные субпопуляции Т-лимфоцитов. При воздействии люизита отмечается преимущественное подавление Т-хелперов и изменение

количества и функциональной активности Т-лимфоцитов [Рембовский В.Р. и соавт., 2000]. Воздействие люизита характеризуется существенными отклонениями от нормальных значений функциональной активности лимфоцитов. При этом в ранние сроки интоксикации отмечается увеличение индексов стимуляции, а позднее наблюдается угнетение митогенного ответа лимфоцитов. При воздействии люизита уже на 1-е сут интоксикации наблюдается достоверное повышение функциональной активности В-популяции лимфоидных клеток во всех исследованных дозах. Следует отметить достоверные отклонения популяционного состава лимфоцитов и угнетение их функциональной активности в отдаленные сроки после воздействия люизита, что свидетельствует о значительной глубине поражений иммунной системы животных при интоксикации данным ОВ [Горшенин А.В. и соавт., 1998].

Иследования, проведенные М.Г.Скальной и соавт. (1995), показали, что в тимусе беременных мышей, получивших суммарную дозу арсенита натрия – 300 мг/кг, обнаружены выраженные признаки акцидентальной инволюции: снижение абсолютной и относительной массы органа, клеточности, особенно коркового вещества, увеличение апоптозно-измененных лимфоцитов, уменьшение объемной плотности коркового вещества и увеличение – мозгового, повышение количества тимических телец, особенно кистоподобных структур, и эпителиальных канальцев на фоне снижения секреторной активности органа практически в 2 раза. При исследовании новорожденных мышей установлено, что подострая экспозиция мышьяком матерей в дозе 10 мг/кг не сопровождалась грубыми морфофункциональными изменениями тимуса у потомства, а также не влияла на его численность и антенатальную смертность.

Нами в опытах на крысах Вистар установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2003] (табл. 6.1), что после острого отравления перорального β-хлорвинилдихлорарсином в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ (табл. 1) отмечалось снижение Т-зависимого гуморального иммунного ответа, тимуснезависимой гуморальной иммунной реакции, АЗКЦ, активности ЕКК, формирования ГЗТ и индукции макрофагами гуморального иммунного ответа к ЭБ соответственно в 3,02; 1,62; 2,19; 2,01; 1,79 и 1,89 раза ($p<0,05$). Острая пероральная интоксикация хлоридом мышьяка (0,5 $ЛД_{50}$) вызывала супрессию тимусзавимого и Т-независимого гуморального иммунного ответа, АЗКЦ, ЕЦ, реакции ГЗТ и способности макрофагов индуцировать тимусзависимую гуморальную иммунную реакцию соответственно в 2,25; 1,27; 2,75; 1,64; 1,66 и 1,73 раза ($p<0,05$) соответственно.

Таблица 6.1

Влияние острого отравления соединениями мышьяка (0,5 $ЛД_{50}$) на иммунные реакции у крыс ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Люизит	Хлорид мышьяка
АОК к ЭБ, 10^3	37,2 ± 4,3	12,3 ± 2,1*	16,5 ± 3,2*
АОК к Vi-Ag, 10^3	23,0 ± 2,2	14,2 ± 2,5 *	18,1 ± 2,6*
АЗКЦ, %	15,1 ± 1,4	6,9 ± 1,3*	5,5 ± 1,9*
ЕЦ,%	28,0±4,1	13,9±3,0*	17,1±2,3*
ГЗТ, %	32,1 ± 3,3	17,9 ± 2,4*	19,3 ± 2,5*
Индукция макрофагами гуморального иммунного ответа к ЭБ по числу АОК в селезенке, 10^3	14,2 ± 2,0	7,5 ± 1,5*	8,2 ± 1,7*

Примечание: в каждой серии использовалось 9 животных.

Следует отметить, что Т-зависимый гуморальный иммунный ответ более чувствителен ($p<0,05$) к поражающему действию соединений мышьяка. Так, число АОК к ЭБ при остром действии люизита и хлорида мышьяка снижалось в на 66,9 и 55,4% соответственно, а число АОК к Vi-Ag – только на 38,3 и 21,3% соответственно. Более выраженная супрессия Т-зависимого антителообразования при действии СМ связана с большим числом клеток и реакций, участвующих в его реализации, по сравнению с тимуснезависимой антителопродукцией [Забродский П.Ф., 1998; 1999]. Эквилетальная доза хлорида мышьяка вызывала в целом менее выраженные ($p>0,05$) изменения показателей иммунного гомеостаза по сравнению с эффектом β-хлорвинилдихлорарсина.

Нами установлено (табл. 6.2), что при острой интоксикации люизитом (0,5 $ЛД_{50}$) активность каталазы и пероксидазы, характеризующей антиоксидантную систему (АОС), уменьшалась соответственно на 41,1 и 30,7% ($p<0,05$), хлорид мышьяка (0,5 $ЛД_{50}$) вызывал редукцию данных параметров соответственно на 35,8 и 46,9% ($p<0,05$). Основной продукт ПОЛ малоновый диальдегид (МДА) при острых отравлениях люизитом и хлоридом мышьяка повышался соответственно на 23,2 и 17,4% ($p<0,05$). Изменения показателей ПОЛ в крови, несомненно, отражают процесс свободнорадикального окисления липидов, как всех клеток различных органов в целом, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов.

Таблица 6.2

Действие острой интоксикации соединениями мышьяка (0,5 $ЛД_{50}$)

на показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (M+m)

Соединения мышьяка	Каталаза, мкактал/мл	Пероксидаза, Мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	771,5±70,2	52,4±5,7	5,12±0,25
Люизит	454,7± 47,3 *	36,3± 4,0 *	6,31± 0,20 *
Хлорид мышьяка	495,3± 50,5 *	27,8± 3,3 *	6,01± 0,22 *

Примечание: в каждой серии использовались 9 крыс; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Активность каталазы и пероксидазы, характеризующей АОС, уменьшалась соответственно на 41,1 и 30,7% ($p<0,05$), хлорид мышьяка вызывал редукцию данных параметров соответственно на 35,8 и 46,9% ($p<0,05$). Основной продукт ПОЛ МДА при острых отравлениях люизитом и хлоридом мышьяка повышался соответственно на 23,2 и 17,4% ($p<0,05$). Изменения показателей ПОЛ в крови, несомненно, отражают процесс свободно-радикального окисления липидов, как всех клеток различных органов в целом, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов.

При вычислении коэффициентов корреляции между числом АОК к ЭБ при остром отравлении люизитом и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс установлено, что они составляли соответственно 0,769±0,077 ($p<0,05$) и 0,754±0,082 ($p<0,05$). Коэффициенты корреляции при острых отравлениях люизитом и хлоридом мышьяка между числом АОК к ЭБ и содержанием МДА в крови составляли соответственно -0,763±0,079 ($p<0,05$) и -0,710±0,096 ($p<0,05$). Значения r между другими параметрами системы иммунитета при остром действии СМ и показателями АОС находились в пределах от 0,687 до 0,805 ($p<0,05$), а коэффициенты корреляции между содержанием МДА в крови и показателями иммунного статуса при действии СМ составляли от -0,667 до -0,789 ($p<0,05$).

Вероятно, инициация ПОЛ под влиянием соединений мышьяка может являться одним из факторов, способствующим формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния.

Выявленное снижение показателей системы иммунитета при острой интоксикации соединениями мышьяка может быть обусловлено ингибированием моно- и дитиоловых ферментов, моноаминоксидазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрасферазы, нарушением цикла трикарбоновых кислот,

блокированием ДНК-полимеразы, разобщением тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования) [Ершов Ю.А. и соавт., 1989; Давыдова В.И., 1990].

Таким образом, при острых отравлениях β-хлорвинилдихлорарсином и хлоридом мышьяка (0,5 $ЛД_{50}$) у крыс существенно снижаются преимущественно Т-зависимый гуморальный иммунный ответ, антителозависимая клеточная цитотоксичность, активность ЕКК, реакция ГЗТ и индукция макрофагами гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену. Острые отравления β-хлорвинилдихлорарсином и хлоридом мышьяка (0,5 $ЛД_{50}$) у крыс инициируют перекисное окисление липидов, вызывая снижение в крови активности каталазы и пероксидазы и увеличивая содержание малонового диальдегида. Установлены высокие коэффициенты корреляции между показателями антиоксидантной системы и параметрами системы иммунитета (положительные) и основным продуктом перекисного окисления липидов в крови малоновым диальдегидом и показателями иммунного статуса (отрицательные) после острых отравлений соединениями мышьяка.

Нами [Забродский П.Ф., Василенко О.А., и др., 2004] в экспериментах на неинбредных белых крысах и мышах линии CBA установлено, что после острой интоксикации соединениями мышьяка - СМ (люизитом, метаарсенитом натрия) в дозах, составляющих 0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$, происходило дозозависимое снижение Т-зависимого антителообразования через 5 и 8 сут (синтеза IgM и IgG) после иммунизации, что свидетельствует о снижении функции Th1 и Th2-лимфоцитов и В-клеток. Редукция показателя более выражена при действии СМ в продуктивный период антителопродукции. Острое отравление СМ (0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$), вызывало дозозависимое снижение Т-независимой антителопродукции, функции Т-клеток, кооперации Т- и В-лимфоцитов, активности естественных клеток-киллеров, реакции ГЗТ, характеризующей первичный клеточный иммунный ответ и функцию Th1-лимфоцитов, антителозависимой клеточной цитотоксичности.

Так, в опытах на сингенных мышах нами показано (табл. 6.3), что люизит в концентрациях 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М уменьшает функцию В-клеток в кооперации с Т-лимфоцитами соответственно в 1,59; 2,01 и 3,35 раза ($p<0,05$), а функцию Т-клеток - в 2,56, 2,94 и 3,98 ($p<0,05$) раза соответственно.

Таблица 6.3

Нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов под влиянием люизита

и метаарсенита натрия in vitro (по формированию АОК спленоцитами мышей СВА на 10^6 В-клеток) [M±m, n=5-7]

Клетки	Концентрация МС, М					
	10^{-5}		10^{-4}		10^{-3}	
	Л	МАН	Л	МАН	Л	МАН
В		-	-		-	
В+Т		-	-		-	
$В^0$+Т	212±21[a]	286±27[c]	168±16[ac]	223±19[a c]	101±10[a]	139±14[a c]
В+$Т^0$	132±15[b]	185±17[b]	115±10[b]	160±17[b]	65±7[b]	84±8[b]

Примечание: К – контроль; В-лимфоциты - 52±6; В+Т - 338±30 ; Л, МАН – люизит, метаарсенит натрия соответственно; $В^0$, $Т^0$ - в течение 1 ч до добавления ЭБ клетки инкубировали с МС, [a] – p<0,05 по сравнению с контролем (В+Т); [b] - p<0,05 по сравнению с $В^0$+Т; [c] - p<0,05 по сравнению с Л.

Аналогичный, но достоверно менее выраженный эффект (p<0,05) оказывает метаарсенит (арсенит) натрия (МАН). Так, МАН в концентрациях 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М уменьшает функцию В-клеток в кооперации с Т-лимфоцитами соответственно в 1,18 (p>0,05); 1,52 и 2,43 раза (p<0,05), а функцию Т-клеток - в 1,83, 2,11 и 4,02 (p<0,05) раза соответственно. СМ в большей степени снижают функцию Т-лимфоцитов (p<0,05) при концентрациях, составляющих 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М.

Таким образом, под влиянием люизита и метаарсенита натрия in vitro существенно нарушается кооперация Т- и В-лимфоцитов. Мышьяксодержащие соединения в прямой зависимости от концентрации (10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М) снижают кооперацию лимфоцитов, поражая преимущественно Т-клетки. Действие люизита на кооперацию лимфоцитов по сравнению с арсенитом натрия более выражено (p<0,05).

При исследовании влияния токсикантов на ЕКК крыс нами установлено [Василенко О.А., Забродский П.Ф. и др., 2004] (табл. 6.4), что через 1–6 сут СМ (0,2; 0,5 и 0,8 $ЛД_{50}$) дозозависимо снижают активность естественных клеток-киллеров.

Т а б л и ц а 6.4

Изменение активности естественных клеток-киллеров после острого отравления мышьяксодержащими соединениями, % (M±m, n=5-6)

Вещества	Доза, $ЛД_{50}$	Время исследования, сут			
		1	3	6	9
Контроль	0	33,5± 1,5 (30)			
Люизит	0,2	24,1± 3,7*	23,4± 3,3	25,0± 3,0	29,9± 4,1
	0,5	17,6± 3,5*	18,6± 3,6*	22,2± 2,9*	26,4± 3,7

	1,0	9,2± 3,1*	11,6± 3,4*	15,9± 4,0*	24,8± 4,0
МАН	0,2	25,3± 3,8*	27,0± 3,0	28,4± 3,1	32,4± 4,2
	0,5	19,5± 3,3*	22,3± 3,5*	26,2± 3,9	30,6± 3,9
	1,0	12,0± 2,9*	14,7± 2,8*	17,9± 3,3*	31,5± 3,5

Примечание: в скобках – число животных; * – $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Острое отравление люизитом в дозах 0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$ приводило к снижению активности ЕКК у крыс через 1 сут соответственно в 1,39; 1,90 и 3,64 раза ($p<0,05$), а МАН –в 1,32; 1,72 и 2,79 раза ($p<0,05$) соответственно. Через 3 сут острое отравление люизитом в дозах 0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$ приводило к снижению активности ЕКК у крыс соответственно в 1,43; 1,80 и 2,89 раза ($p<0,05$), а МАН – в 1,24 ($p>0,05$); 1,50 и 2,28 раза ($p<0,05$) раза соответственно.

Через 6 сут острое отравление люизитом в дозах 0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$ приводило к снижению показателя у крыс соответственно в 1,34 ($p>0,05$); 1,51 и 2,10 раза ($p<0,05$), а МАН – соответственно в 1,18; 1,28 ($p>0,05$) и 1,87 раза ($p<0,05$) раза. К 9 сут происходило практически полное восстановление параметра. Статистически значимого отличия в действии люизита и МАН на активности ЕКК у крыс, не отмечалось.

Снижение активности ЕКК под влиянием СМ, по-видимому, связано с ингибированием их эстераз ЕКК. Эффекты кортикостероидов и катехоламинов вследствие активации возможной активации МС гипоталамо-гипофозарно-адреналовой системы [Забродский П.Ф., 1993, 2000; Szot R.J., Murphy S.D., 1970; Tiefenbach B.et al., 1983, 1985] также обусловливают редукцию активности ЕКК [Madden K. S., Livnat S., 1991; Claman H.N., 1993]. Взаимодействие МС с сульфгидрильными группами холинорецепторов ЕКК также может являться одним из факторов, вызывающих редукцию активности ЕКК [Трахтенберг И.М., Шафран Л.М., 2002].

Супрессия функциональной активности ЕКК после острой интоксикации СМ может быть связана со снижением функции некоторых ферментов ЕКК (сукцинатдегидрогеназы, альдегиддегидрогеназы, глутаминсинтетазы, тиолтрансацетилазы, люциферазы, ацетил-КоА-карбоксилазы), которое резко усиливается в присутствии СМ, взаимодействующих с моно- и дитиоловыми энзимами [Забродский П.Ф., 1998].

При оценке влияния СМ на активность ЕКК селезенки белых крыс in vitro нами установлено (рис.6.1), что при концентрациях люизита, составляющих 10^{-6} , 10^{-5} и 10^{-4} М, происходит прямо связанное с концентрацией уменьшение активности ЕКК соответственно в 1,57;

2,35 и 5,08 раза ($p<0,05$), а при действии арсенита натрия в эквимолярных концентрациях – соответственно в 1,34; 1,61 и 2,91 раза ($p<0,05$). Эффект люизита статистически значимо превышает действие МАН ($p<0,05$).

Выявленная супрессия активности ЕКК in vitro позволяет считать, что данный эффект связан с ингибированием эстераз, моно- и дитиоловых ферментов ЕКК, взаимодействием соединеий мышьяка с холинорецепторами лимфоцитов, нарушением образования NO, а также общетоксическими эффектами: нарушением тканевого дыхания, мембранотоксическим действием, инициацией перекисного окисления мембран ЕКК [Голиков С.Н. и соавт., 1986; Ройт А., 1991; Забродский П.Ф.,1998; Куценко и соавт., 2004].

Под влиянием данных изменений редукция активности ЕКК при отравлении СМ может быть обусловлена блокированием проникновения гранзимов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени, а также снижением их синтеза. Кроме того, может быть реализовано нарушение процесса порообразования перфорином ЕКК [Ройт и соавт., 2000; Nogueira N., 1984], а также индукцией апоптоза [Хаитов Р. М. и соавт., 2002; Marx J.L., 1986].

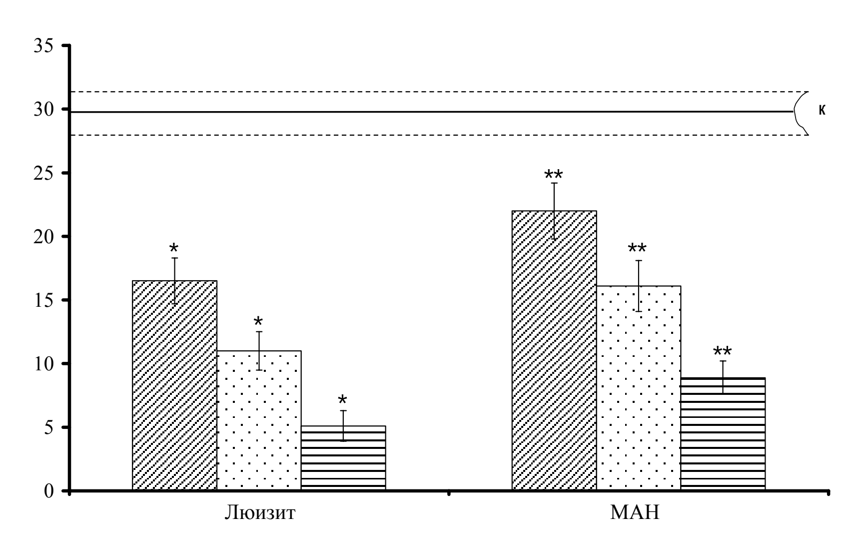


Рис. 6.1. Влияние мышьяксодержащих соединений на активность ЕКК (%) крыс in vitro при инкубации их с токсикантом в течение 1 ч (M±m, n=5-6).
Концентрация мышьяксодержащих соединений, М: ▨ - 10^{-6}; ▢ - 10^{-5}; ▤ - 10^{-4};
* –различие с контролем достоверно - $p<0,05$; ** – различие с контролем и

метаарсенитом натрия (МАН) достоверно - p<0,05.

Таким образом, мышьяксодержащие соединения in vitro в прямой зависимости от концентрации (10^{-6}, 10^{-5} и 10^{-4} М) снижали активность ЕКК. Эффект люизита статистически достоверно превышает действие метаарсенита натрия (p<0,05).

При исследовании содержания антителообразующих клеток (АОК) в селезенке к ЭБ у белых крыс через 5 сут после острой интоксикации СМ в дозах 0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$ было установлено [Забродский П.Ф., Василенко О.А. и др., 2004] (табл. 6.5) дозозависимое снижение показателя, позволяющая полагать, что СМ вызывают супрессию синтеза IgM. В индуктивной фазе иммунного ответа, когда иммунизация ЭБ проводилась практически одновременно с введением СМ, острое отравление люизитом в дозах 0,2; 0,5 и 1,0 $ЛД_{50}$ приводило к уменьшению содержания АОК в селезенке к ЭБ у крыс соответственно в 1,42; 1,95 и 2,64 (p<0,05) раза, а МАН - в 1,24 (p>0,05); 1,77 и 2,24 (p<0,05) раза соответственно. В продуктивном периоде антителогенеза (введение СМ проводили через 3 сут после иммунизации крыс ЭБ) острое отравление люизитом вызывало снижение числа АОК в селезенке к ЭБ соответственно в 1,73 (p>0,05); 2,29 и 3,86 (p<0,05) раза, а МАН – в 1,64; 1,97 и 3,21 (p<0,05) раза соответственно.

Т а б л и ц а 6.5

Влияние острого отравления соединениями мышьяка на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана (10^3), синтезирующих IgM, в селезенке крыс через 5 сут после иммунизации ЭБ (M±m, n=5-7)

Вещества	Доза, $ЛД_{50}$	Время интоксикации после иммунизации, сут	
		0	3
Контроль	0	40,1±3,3	
Люизит	0,2	28,3±3,1*	23,2±3,0*
	0,5	20,6±2,9*	17,5±2,3*
	1,0	15,2±2,7*	10,4±2,0*
МАН	0,2	32,5±3,3	24,5±3,1*
	0,5	22,7±2,8*	20,4±2,2*
	1,0	17,9±2,6*	12,5±2,1*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем.

Объединение показателей при действии люизита и МАН в различные периоды антителогенеза в две единые совокупности

показывает, что острое действие люизита по сравнению с эффектом метаарсенита натрия на синтез IgM B-клетками селезенки более выражено ($p<0,05$). Так, люизит вызывает в среднем редукцию антителообразования в 3,31 раза, а арсенит натрия – в 2,01 раза.

Приведенные результаты исследований свидетельствует о снижении под влиянием СМ функции Th1-лимфоцитов, индуцирующих синтез IgM [Pfeifer C. et al., 1991] B-клетками селезенки, в большей степени в продуктивной фазе антителогенеза по сравнению с его индуктивном периодом. Это может быть вызвано большим поражающим эффектом СМ и их метаболитов на синтез IgM B-лимфоцитами (плазмоцитами) спленоцитов, нарушением процессов дифференцировки B-клеток, а также перераспределением лимфоцитов между органами системы иммунитета в период максимальной антителопродукции (3-5 сут после иммунизации). Нельзя исключить и ингибирующее синтез антител действие кортикостероидов [Claman H.N., 1993; Ройт А. и соавт., 2000; Забродский П.Ф.,1993,1998, 2002], концентрация которых в крови при действии различных токсикантов увеличивается (стресс-реакция) [Селье Г., 1972].

Возможно под влиянием СМ в продуктивной фазе иммуногенеза по сравнению с индуктивным периодом происходит также более выраженная редукция функции Th1-лимфоцитов, индуцирующих синтез IgM [Pfeifer C. et al., 1991; Ройт А. и соавт., 2000].

Данные литературы свидетельствуют, что цГМФ участвует в пролиферации лимфоцитов, а цАМФ – в их дифференцировке. В продуктивном периоде антителогенеза осуществляется преимущественно дифференцировка B-лимфоцитов под влиянием цАМФ. По-видимому, СМ оказывают большее действие на цАМФ, чем на цГМФ, поэтому их супрессивный эффект в продуктивный период больше, чем в индуктивный [Ройт А. и соавт., 2000].

При изучении содержания лимфоцитов в органах системы иммунитета мышей СВА под влияние люизита установлено [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Мандыч В.Г., 2006] (табл. 6.6), что люизит через 2 сут после введения вызывал уменьшение содержания Т-лимфоцитов в тимусе, селезенке и лимфоузлах, снижение B-клеток в селезенке, тенденцию к снижению B-лимфоцитов в костном мозге и лимфоузлах. Через 6 сут большинство из исследованных показателей оставались сниженными.

Т а б л и ц а 6.6

Влияние острого отравления люизитом (0,75 LD_{50}) на содержание

Т- и В-лимфоцитов в лимфоидных органах мышей через 2 и 6 сут (10^6) (M$\pm$m, n=8-9)

Серии опытов	Время после интоксикации, сут	Орган	Лимфоциты	
			Т-	В-
Контроль	–	Тимус	59,3±3,2	–
		Селезенка	68,2±4,5	72,3±4,0
		КМ	–	3,5±0,3
		ЛУ	1,7±0,1	0,5±0,1
Люизит	2	Тимус	42,3±3,9*	–
		Селезенка	56,0±4,8*	55,0±4,2*
		КМ	–	2,4±0,3
		ЛУ	1,2±0,2*	0,3±0,1
	6	Тимус	48,3±3,3*	–
		Селезенка	58,2±4,0*	59,3±4,3*
		КМ	–	3,4±0,4
		ЛУ	1,5±0,1	0,4±0,1

Примечания: КМ – костный мозг, ЛУ – лимфоузлы (паховые); * - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

Т-лимфоциты, выделенные из селезенки, после острого воздействия люизита (0,75 $ЛД_{50}$) обладали сниженной антихолинэстеразной активностью по сравнению с контролем [Забродский П.Ф. и соавт., 2003] (табл. 6.7). Так, острое отравление люизитом вызывало статистически значимое ($p<0,05$) уменьшение активности АХЭ в Т-лимфоцитах селезенки в 1,56 раза.

Таблица 6.7

Влияние люизита (0,75 DL_{50}) на активность ацетилхолинэстеразы в Т-лимфоцитах спленоцитов крыс Вистар и Т-зависимые реакции системы иммунитета через 4 сут после острой интоксикации (M+m, n =9-11)

Серии опытов	Селезенка, активность АХЭ, мЕД/10^9 клеток	АОК к ЭБ, 10^3	ГЗТ, %
Контроль	58,4±6,5	34,7±3,3	27,8±2,1
Люизит	37,5± 4,5*	10,4±2,0*	13,2±1,4*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контролем.

В экспериментальных исследования показано (табл. 6.8) [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Мандыч В.Г., 2006], что острая интоксикация люизитом (0,75 $ЛД_{50}$) существенно увеличивала содержание кортикостерона (КС) в плазме крови через 1-3 ч после

подкожного введения яда. Концентрация гормона в крови через 12 ч оставалась практически в пределах контрольного уровня.

Таблица 6.8

Влияние острой интоксикации люизитом (0,75 DL_{50}) на содержание кортикостерона в плазме крови крыс, нг/мл (M $\pm$ m; 7-9)

ТХ	Контроль	Время после воздействия, ч		
		1	3	12
Люизит	15,1±1,4	74,9±4,7*	43,1±3,0*	18,3±1,9

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контролем.

Снижение активности АХЭ в Т-клетках селезенки прямо связано с уровнем супрессии Т-зависимого антителообразования, а также со степенью редукции реакции ГЗТ.

При оценке содержания эстеразопозитивных клеток (Т-клеток) в селезенке крыс установлено, что люизит уменьшал их относительное количество в органе, являющемся основным продуцентом антител (иммуноглобулинов) [Ройт А. и соавт., 2000]. Так, относительное содержание Т-клеток, содержащих α-нафтил-AS-ацетатэстеразу, снижалось через 4 сут после острой интоксикации люизитом в 1,34 (p<0,05), а содержание α-нафтилбутиратэстеразопозитивных Т-лимфоцитов – в 1,30 раза (p<0,05).

Результаты приведенных экспериментальных исследований, а также данные литературы дают основания считать, что поражение системы иммунитета соединениями мышьяка обусловлено снижением содержания иммуноцитов в органах системы иммунитета; кооперации Т- и В-лимфоцитов; супрессией антителообразования; поражением Т-лимфоцитов и ЕКК вследствие увеличения содержания кортикостерона в крови, инициации ПОЛ, инактивации моно- и дитиоловых ферментов, эстераз и других энзимов иммуноцитов, нарушением цикла трикарбоновых кислот, блокированием ДНК-полимеразы, редукцией образования АТФ из АДФ (разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования) лимфоцитов и других клеток крови.

6.2. Токсикологическая характеристика и иммунотоксические свойства сернистого иприта

Сернистый, или перегнанный иприт (дихлордиэтилсульфид, S-

$(CH2\text{-}CH2\text{-}Cl)_2)$, $t_{кип}$=217,0 ^oC, $t_{пл}$=14,0 ^oC. Растворимость в масле 38,0; в воде - 0,08; летучесть =0,6 мг/л. Токсичность при ингаляционном воздействии LCt=4,5 мг/мин/л; при резорбции Ld=50-70 мг/кг [Саватеев Н.В., 1987; Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990; Куценко С.А., 2004].

Перегнанный иприт – это химически чистый дихлордиэтилсульфид, бесцветная масляная жидкость. Летучесть незначительная, но уже через 3 минуты после вдыхания паров иприта в условиях максимального насыщения, в организм проникает смертельная токсодоза. Хорошая растворимость в жирах обеспечивает высокую проницаемость через кожу. Пары иприта тяжелее воздуха в 5,5 раза. Смеси иприта с дихлорэтаном, зарином, зоманом замерзают при температуре ниже – 20 ^oC, поэтому они могут быть применены в зимнее время [Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Куценко С.А., 2004].

Химические свойства иприта обусловлены наличием в его молекуле двухвалентной ненасыщенной серы, способной окислятся до четырех, и шестивалентной, и двух галоидных алкилов. Применение в токсикогенной фазе отравления ипритом индукторов микросомального окисления типа бензонала, активирует серу до шестивалентной, что увеличивает его токсичность на 50-60% [Александров В.Н., Емельянов В.И., 1990].

Иприты способны проникать в организм, вызывая при этом поражение, любым путем: ингаляционно (в форме паров и аэрозоля), через неповрежденную кожу, раневую и ожоговую поверхности (в капельно-жидкой форме) и через рот с зараженной водой и продовольствием. Контакт с веществами не сопровождается неприятными ощущениями (немой контакт) [Саватеев Н.В., 1987; McManus J., Huebner K. M., 2005; Saladi R.N. et al., 2006]

После поступления в кровь вещества быстро распределяются в организме, легко преодолевая гистогематические барьеры, проникают в клетки. Метаболизм веществ проходит с большой скоростью. Так, в экспериментах на кроликах показано, что 90% сернистого иприта, меченного по сере (^{35}S), исчезает из крови в течение 20 мин, а уже через 10 мин радиоактивность обнаруживается в моче. Наибольшая радиоактивность определяется в органах, выполняющих экскреторную функцию (почки, легкие, печень). В моче животных после внутривенного введения иприта (^{35}S) обнаруживаются продукты его превращения (гидролиза и окисления молекулы). Метаболизм веществ осуществляется при участии тканевых микросомальных ферментов. Поскольку в процессе метаболизма ипритов образуются токсичные

промежуточные продукты (сульфоний, иммоний катионы и др.), индукция микросомальных ферментов, вызываемая в эксперименте путем назначения специальных средств (производные барбитуровой кислоты и др.), сопровождается усилением их токсичности [Куценко С.А., 2005; Amitai G. et al., 2006; McManus J., Huebner K. M., 2005; Saladi R.N. et al., 2006]

Поражение ипритом складывается из местного и резорбтивного действия яда. Токсический процесс при поражении ипритом описан в многочисленных источниках литературы [Браун-Чернобульской Б.С., Луйк А.И., 1983; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Куценко С.А., 2004; Balali-Moode M. et at., 2005; McManus J., Huebner K. M., 2005].

Размножение клеток при отравлении ипритом приостанавливается на стадии промиэлоцитов. Число миэлоидных элементов в костном мозге резко уменьшается. Развивается атрофия лимфоидных органов. В селезенке и лимфатических узлах наблюдается резко выраженный склероз. При отравлении большими дозами иприта изменения крови проявляются лейкоцитозом с нейтрофильным сдвигом влево до палочкоядерных или юных форм (первые часы). К концу первых суток существенно увеличивается количество сегментоядерных нейтрофилов в крови, а количество эозинофилов и базофилов, а также моноцитов и лимфоцитов существенно снижается. Лейкопения со вторых суток быстро нарастает и в крайне тяжелых случаях (на 4 – 5 сутки после отравления) переходит в алейкию. Естественно, при этом иммунный ответ значительно снижается, так как отсутствуют клетки для его реализации. Если животное или человек после отравления выживают, то отмечается быстрое увеличение числа лейкоцитов в крови [Куценко С.А., 2004; Balali-Moode M. et at., 2005; McManus J., Huebner K. M., 2005; Saladi R.N. et al., 2006]

При выздоровлении сначала наступает регенерация элементов костного мозга, а затем лимфоидной ткани. Относительно быстро нормализуется количество лейкоцитов в периферической крови, реактивность гемопоэза восстанавливается полностью [Куценко С.А., 2004].

О поражении иммунной системы ипритом свидетельствуют данные о том, что у 1267 бывших британских военнослужащих (пенсионеров), подвергшихся в первой мировой войне отравлению ипритом, через 15 лет после воздействия заболевали раком легких в два раза чаще, чем неотравленные люди того же возраста [McManus J., Huebner K. M., 2005]

У обследуемых вереранов Ирано-Иракского конфликта,

пораженных ипритом, выявлены увеличение содержания в крови IgM, лимфоцитов CD3 (Т-лимфоцитов), моноцитов, и снижение лимфоцитов CD16 (нейтрофилов, макрофагов, ЕКК) и CD56 (ЕКК) по сравнению с контрольной группой [Balali-Moode M. et at., 2005].

В последнее время появилась информация о способности ипритов вызывать индукцию и повышать активность NO-синтетазы. Поскольку установлено, что оксид азота является активным регулятором тонуса стенки сосудов и функционального состояния иммуноцитов на обмен NO также можно отчасти объяснить развивающиеся сосудистые реакции и нарушения со стороны нервной системы [Куценко С.А., 2004; Arroyo C.M. et al., 2004].

Установлено, что на клеточном уровне иприты и активные промежуточные продукты их метаболизма взаимодействуют с нуклеофильными группами молекул клеточных мембран и внутриклеточных структур, вызывая их алкилирование. Основными функционально значимыми мишенями для действия токсикантов являются белки и нуклеиновые кислоты. Взаимодействием с белками можно объяснить ингибиторную активность ипритов в отношение ряда ферментов: гексокиназы, холинацетилазы, ацетилхолинэстеразы, супероксиддисмутазы и т.д. Однако особое значение придают их повреждающему действию на дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК), формирующие генетический код клетки. В этой связи иприты относят к группе генотоксикантов (вещества, повреждающий генетический код). В основе повреждающего действия ипритов на ДНК лежит образование ковалентных связей с пуриновыми основаниями нуклеотидов (аденином, гуанином) [Саватеев Н.В., 1987; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Куценко С.А., 2004; McManus J., Huebner K. M., 2005; Saladi R.N. et al., 2006]

Иприт обладает способностью “сшивания” комплементарных нитей двойной спирали ДНК. Эта реакция повреждает генетический код клеток, в частности СКК и лимфоцитов, нарушает процессы редупликации и транскрипции, лежащие в основе синтеза белка и клеточного деления. Иприт блокирует клеточный цикл митоза обратимо в фазе G_2M (синтез компонентов клеточных структур, участвующих в процессе деления клеток) и необратимо в фазе G_1S (этап использования пуриновых и пиримидиновых оснований для синтеза ДНК). Алкилирование ДНК является лишь пусковым механизмом процессов, приводящих к еще более глубокому повреждению клеток и их гибели. В последующем происходит отщепление алкилированных пуриновых оснований ДНК от

молекулы), которые затем под влиянием эндонуклеаз “вырезаются” из структуры нитей ДНК [Куценко С.А., 2004]. Поскольку при действии иприта на клетки, в частности стволовые кроветворные клетки, лимфоциты и их предшественники, повреждаются смежные участки комплементарных нитей ДНК, в процессе репарации возможны грубые ошибки. Генетический код клетки полностью не восстанавливается. Количество НАД, активно потребляемого в ходе репаративных процессов, истощается и сопровождается снижением уровеня АТФ, приводит к увеличению содержания внутриклеточного кальция. Это является пусковым механизмом каскада патологических реакций, приводящих поврежденную клетку, в частности иммуноцит (лимфоцит) к гибели [Куценко С.А., 2004; Amitai G. et al., 2006; Saladi R.N. et al., 2006].

Механизм цитотоксического действия ипритов (в том числе на лимфоциты и другие клетки, определяющие иммунные реакции) тесно связан с метаболизмом ксенобиотика в клетках. Полагают, что в реакцию алкилирования биологических субстратов (в том числе и ДНК) вступает не сам иприт, а активные промежуточные продукты его метаболизма. Образование активных метаболитов проходит при участии Р-450- зависимых монооксигеназ. Реактивные метаболиты иприта в последующем вступают в реакцию конъюгации с глутатионом и детоксицируются. Эти реакции сопровождаются инициацией ПОЛ в клетке, как вследствие активации перекисных процессов, так и за счет подавления механизмов антиоксидантной защиты [Саватеев Н.В., 1987; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Amitai G. et al., 2006; Arroyo C.M. et al., 2004; Balali-Moode M. et at., 2005; McManus J., Huebner K. M., 2005; Saladi R.N. et al., 2006].

Цитотоксическое действие иприта нарушает синтез различных цитокинов лимфоцитами. Так, иприт уменьшает продукцию интерлейкина IL-1α и увеличивает продукции IL-6, IL-8. При этом продукция интерлейкина IL-1β и фактора некроза опухоли (TNF-α) не изменяется [Amitai G. et al., 2006; Arroyo C.M. et al., 2004].

Не принимая во внимание работы 50-60-х годов (до становления иммунологии, как науки в ее современном виде), следует отметить отдельные исследования А.В. Горшенина (1998), в которых показано снижение антителообразования после острого действия ОВ кожно-нарывного действия. Ог показал, что иприт и люизит обладают выраженным иммунотоксическим действием с преимущественным поражением клеточного звена иммунной системы. Автор установил, что иприт и люизит (а также ипритно-люизитная смесь) вызывают

различное изменение соотношения основных популяций и субпопуляций лимфоцитов – Т- и В- лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров в крови экспериментальных животных (крыс и мышей).

Показано мускарино- и никатиноподобное действие иприта. У веществ выявляется антихолинэстеразная активность и способность к прямому взаимодействию с холинорецепторами (сначала их возбуждение, а затем блокада) [Куценко С.А., 2005; Amitai G. et al., 2006]. Учитывая наличие холинорецепторов на лимфоцитах, иммунотоксический эффект иприта может быть связан с взаимодействием с холинорецепторными структурами иммунокомптентных клеток [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979; Masini et al., 1985; Rossi A. et al., 1989].

Несмотря на обилие работ, посвященных изучению физиологической активности иприта, биохимические механизмы его токсического действия выяснены не до конца. Известно, что этот яд ингибирует более 40 различных энзимов, нарушает углеводный и нуклеиновый обмен, инициирует перекисное окисление липидов, оказывает общетоксический эффект вследствие ингибирования ферментов, превращающих глюкозу в молочную кислоту [Александров В.Н. и соавт., 1990].

При исследовании нами [Забродский П.Ф., Германчук В.Г. Нодель М.Л., 2002] содержания антителообразующих клеток (АОК) в селезенке к ЭБ у белых мышей после острой интоксикации ипритом через 5 сут после иммунизации было установлено (рис. 6.2), что при введении яда за 1 сут до введения ЭБ происходит существенное уменьшение числа АОК под влиянием иприта в 2,16 раза ($p<0,05$). При введении иприта одновременно с иммунизацией число АОК к ЭБ в селезенке мышей снижалось в 2,40 раза ($p<0,05$).

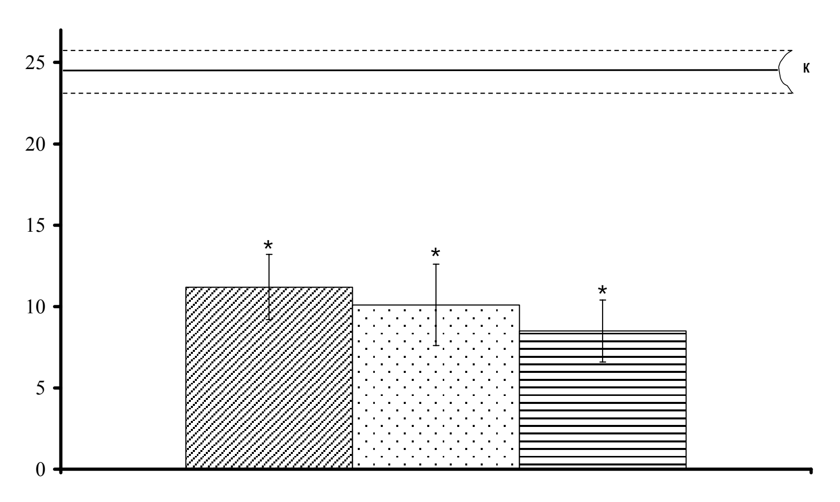


Рис. 6.2. Влияние острого отравления ипритом на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана (10^3), синтезирующим IgM, в селезенке белых мышей через 5 сут (M±m, n=6-7).
Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут: ▨ – -1; ⬚ - 0; ▤ - 3;
* – различие с контролем достоверно - p<0,05.

Иприт при введении его через 3 сут после иммунизации ЭБ вызывал снижение АОК (в продуктивной фазе антителогенеза) в 2,85 раза.

Наши результаты исследований позволяют полагать, что под влиянием иприта в продуктивной фазе иммуногенеза по сравнению с индуктивным периодом происходит более выраженная редукция функции Th1-лимфоцитов, индуцирующих синтез IgM, а также в меньшей степени Th2-лимфоцитов [Pfeifer C. et al., 1991], участвующих в синтезе IgG плазмоцитами селезенки.

Исследование нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2002] гуморального иммуного ответа по числу антителообразующих клеток в селезенке мышей, синтезирующих IgG, через 8 сут после иммунизации при действии иприта показало существенное снижение данного показателя в 2,24 раза (p<0,05). Так, в контроле число АОК составляло $15{,}6\cdot10^3$, а после действия токсиканта – $7{,}1\pm1{,}6\cdot10^3$.

Экспериментальные исследования [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2002] позволили установить (рис. 6.3), что иприт в концентрациях 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М уменьшает функцию В-клеток в кооперации с Т-лимфоцитами соответственно 1,62; 2,19 и 3,06 раза

($p<0,05$), а функцию Т-клеток – в 2,73, 3,77 и 7,02 ($p<0,05$) раза соответственно. Приведенные данные свидетельствуют, что иприт в большей степени снижает функцию Т-лимфоцитов по сравнению с действием на В-клетки ($p<0,05$) при всех использованных концентрациях.

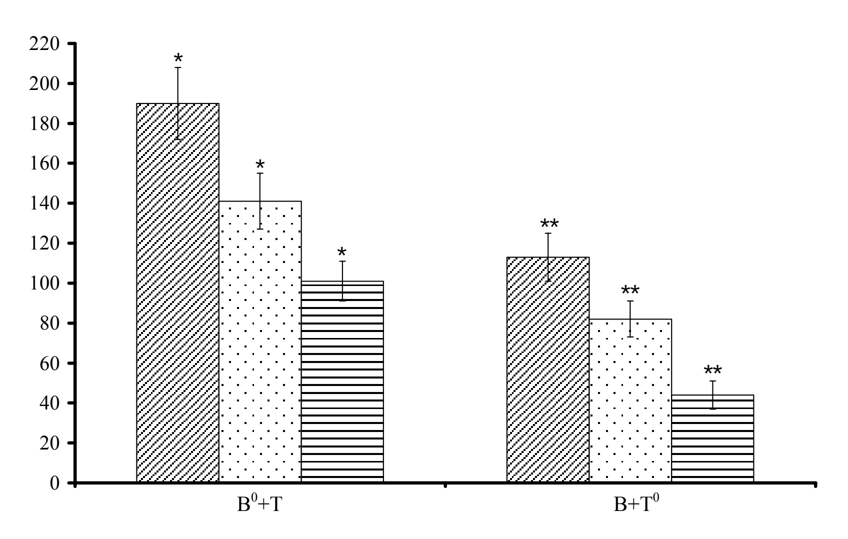


Рис. 6.3. Нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов под влиянием иприта in vitro (по формированию АОК иммуноцитами мышей СВА на 10^6 В-клеток) (M±m, n=5-6)
Концентрация иприта, М: ▨ - 10^{-5}; ⚀ - 10^{-4}; ▤ - 10^{-3}
Контроль: В- 42±5; В+Т - 309 ± 27; B^0, T^0 - в течение 1 ч до добавления ЭБ клетки инкубировали с раствором иприта; * $p<0,05$ по сравнению с контролем (В+Т); ** $p<0,05$ по сравнению с B^0+T.

Таким образом, под влиянием иприта существенно нарушается кооперация Т- и В-лимфоцитов в прямой зависимости от концентрации (10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М). Токсикант поражает преимущественно Т-клетки.

Снижение синтеза IgG (а также IgM) под влиянием иприта вероятно обусловлены снижением функции антигенпрезентирующих клеток, Th2-лимфоцитов и В-клеток в результате ингибированием многочисленных энзимов, в том числе неспецифических эстераз Т-лимфоцитов и макрофагов [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983; Забродский П. Ф., 1987] как самим токсикантом, так и его метаболитами. Кроме ингибирования эстераз данных клеток редукция

антителобразования может быть обусловлена снижением процессов тканевого дыхания вследствие взаимодействия продуктов деградации иприта с компонентами цитохромоксидазы клеток крови и уменьшением окислительного фосфорилирования (синтеза АТФ) в Т- и В- лимфоцитах [Забродский П. Ф., 1998; 2002].

В опытах на животных показано [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Германчук В.Г., 2002], что при действии иприта в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ на АЗКЦ селезенки мышей при иммунизации ЭБ за 1 сут до интоксикации происходило статистически значимое уменьшение активности К-клеток ($p<0,05$) через 5 сут после иммунизации (рис. 6.4).

Отмечалась редукция АЗКЦ при действии иприта (0,75 $ЛД_{50}$) при иммунизации ЭБ за сутки до введения яда в 2,41 раза, одновременно с введением токсиканта - в 2,71 раза, а при введении иприта через 3 сут после иммунизации - в 2,95 раза.

При изучении влияния иприта на ЕКК установлено (рис. 6.5), что происходило статистически значимое уменьшение их активности ($p<0,05$) через 1 сут после интоксикации.

Через 1, 3 и 6 сут после отравления ипритом отмечалось снижение активности ЕКК соответственно в 3,33; 2,50 и 1,66 раза ($p<0,05$).

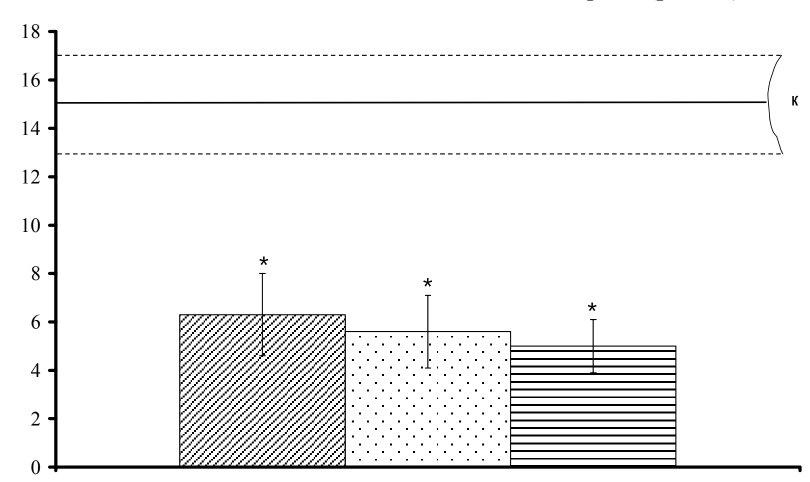


Рис. 6.4. Влияние острого отравления ипритом (0,75 $ЛД_{50}$) на антителозависимую клеточную цитотоксичность спленоцитов мышей через 5 сут , % (M±m, n=6-8).
Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут: ▨ - -1; ⬚ - 0; ▤ - 3;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

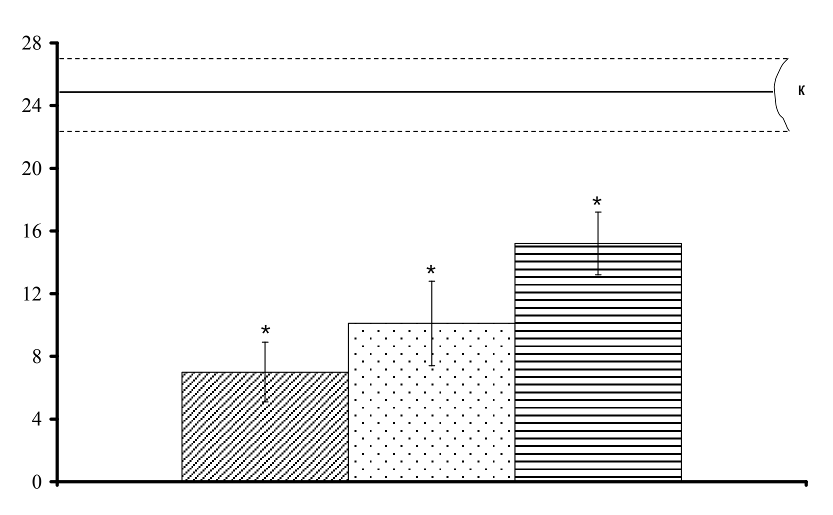


Рис. 6.5. Влияние острого отравления ипритом (0,75 $ЛД_{50}$) на активность естественных клеток-киллеров мышей, % (M±m, n=6-8).
Время после интоксикации, сут: ▨ - 1; ⊡ - 3; ⊟ - 6;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Снижение активности ЕКК под влиянием сернистого иприта может быть связано с ингибированием их эстераз, которые содержатся в ЕКК [Забродский П.Ф., 1998, 2002], а также эффектами кортикостероидов и катехоламинов вследствие активации токсикантом гипоталамо-гипофозарно-адреналовой системы [Madden K. S., Livnat S., 1991; Claman H.N., 1993].

Сернистый иприт способен снижать активность ЕКК вследствие поражения механизмов порообразование перфорином и выделения в клетки мишени гранзимов [Ройт А. И соавт., 2000; Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984], поражения как самой молекулой токсиканта, так и ее токсичными метаболитами ферментных систем ЕКК [Ленинджер А, 1974; Румянцев А.П. и соавт., 1981; Страйер Л., 1985; Голиков С.Н. и соавт., 1986; Забродский П.Ф., 1998].

В экспериментах in vitro (рис. 6.6) [Забродский П.Ф. и соавт., 2002] показано, что иприт в концентрациях, составляющих 10^{-5}, 10^{-4} и 10^{-3} М, снижал активность ЕКК селезенки (естественную цитотоксичность – ЕЦ – спленоцитов) крыс Вистар.

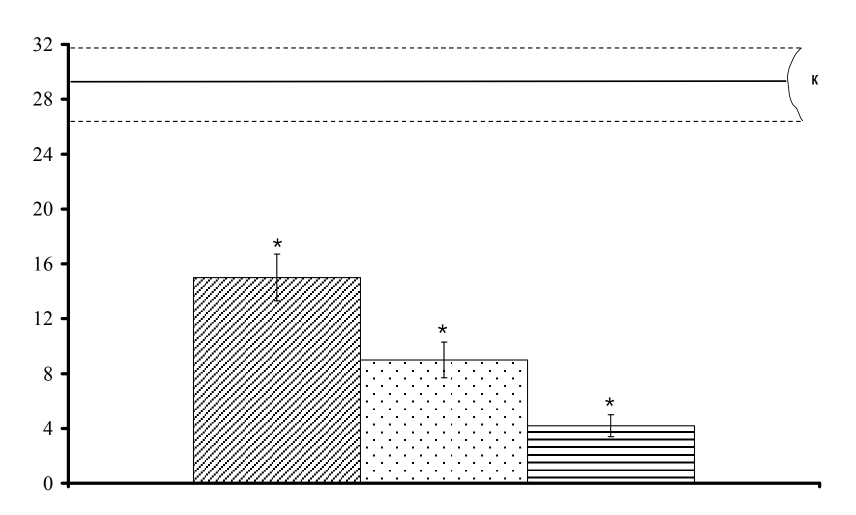


Рис. 6.6. Влияние иприта на активность ЕКК (%) у крыс Вистар in vitro (M±m, n=6-8). Концентрация, М: ▨ - 10^{-5}; ⬚ - 10^{-4}; ▤ - 10^{-3}; спленоциты в течение 1 ч инкубировали с ипритом, растворенном в диметилсульфоксиде;
* – p<0,05 по сравнению с контролем.

При изучении содержания лимфоцитов в органах системы иммунитета мышей СВА под влияние иприта установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2006] существенное снижение Т-клеток в тимусе, селезенке и лимфоузлах, В-лимфоцитов – в селезенке, костном мозге и лимфоузлах через 2 сут (табл. 6.9).

Через 6 сут сохранялось уменьшение Т-лимфоцитов в тимусе и селезенке, отмечалась тенденция к снижению этих клеток в лимфоузлах. В-клетки снижались в костном мозге (p<0,05), селезенке и лимфоузлах (p>0,05)

Нами показано (табл. 6.10), что Т-лимфоциты, выделенные из селезенки, после острого воздействия иприта (0,75 $ЛД_{50}$) обладали сниженной антихолинэстеразной активностью по сравнению с контролем [Забродский П.Ф. и соавт., 2003]. Так, острое отравление сернистым ипритом вызывало статистически значимое (p<0,05) уменьшение активности АХЭ в Т-лимфоцитах селезенки соответственно в 4,45 раза.

Нами показано (рис. 6.7) [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Мандыч В.Г., 2006], что острая интоксикация ипритом (0,75 $ЛД_{50}$) существенно увеличивала содержание кортикостерона (КС) в плазме крови через 1-3 ч после подкожного введения токсиканта. Концентрация гормона в крови через 12 ч оставалась практически в

пределах контрольного уровня.

Т а б л и ц а 6.9

Влияние острого отравления сернистым ипритом (0,75 LD_{50}) на содержание Т- и В-лимфоцитов в лимфоидных органах мышей через 2 и 6 сут (10^6) (M+m, n=8-9)

Серии опытов	Время после интоксикации, сут	Орган	Лимфоциты	
			Т-	В-
Контроль	–	Тимус	59,3+3,2	–
		Селезенка	68,2+4,5	72,3+4,0
		КМ	–	3,5+0,3
		ЛУ	1,7+0,1	0,5+0,1
Иприт	2	Тимус	39,1+3,0*	–
		Селезенка	47,5+4,8*	50,1+4,4*
		КМ	–	2,5+0,2*
		ЛУ	1,1+0,1*	0,2+0,1*
	6	Тимус	46,0+3,8*	–
		Селезенка	57,1+4,1*	53,4+4,8*
		КМ	–	2,0+0,2*
		ЛУ	1,5+0,1	0,3+0,1

Примечание: КМ – костный мозг; ЛУ – лимфоузлы (паховые); * – различие с контролем достоверно – р<0,05.

Т а б л и ц а 6.10

Влияние сернистого иприта (0,75 DL_{50}) на активность ацетилхолинэстеразы в Т-лимфоцитах спленоцитов крыс и Т-зависимые реакции системы иммунитета через 4 сут после острой интоксикации (M+m, n =9-11)

Серии опытов	Селезенка, активность АХЭ, мЕД/10^9 клеток	АОК к ЭБ, 10^3	Реакция ГЗТ, %
Контроль	58,4+6,5	34,7+3,3	27,8+2,1
Иприт	32,5+ 4,3*	8,5+1,5*	11,3+1,6*

Примечание: * – р<0,05 по сравнению с контролем.

Снижение активности АХЭ в Т-клетках и числа эстеразопозитивных клеток, характеризующих активность неспецифических эстераз в Т-лимфоцитах (и в определенной степени в моноцитах и макрофагах [Ройт А. и соавт., 2000]) селезенки, прямо связано с уровнем супрессии Т-зависимого антителообразования, а также со степенью редукции реакции ГЗТ. Так, число АОК к ЭБ после действия сернистого иприта через 4 сут существенно уменьшалось в 4,08 раза (р<0,05), а формирование ГЗТ – в 2,46 раза.

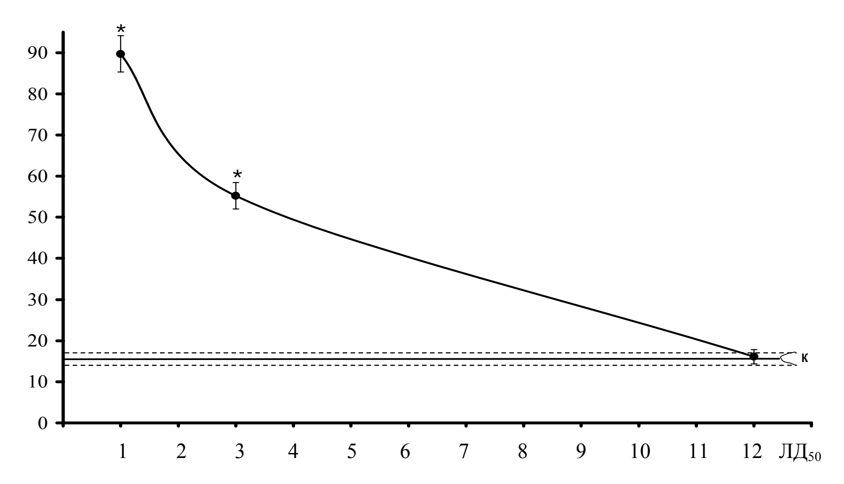


Рис. 6.7. Влияние острой интоксикации ипритом (0,75 DL_{50}) на содержание кортикостерона в плазме крови крыс, нг/мл (M ± m; 7-9):
* - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

При оценке содержания эстеразопозитивных клеток (Т-клеток) в селезенке крыс установлено (рис. 6.8), что сернистый иприт уменьшал их относительное количество в органе, являющимся основным продуцентом антител (иммуноглобулинов) [Ройт А. и соавт., 2000]. Так, относительное содержание Т-клеток, содержащих α-нафтил-AS-ацетатэстеразу, снижалось через 4 сут после острой интоксикации сернистым ипритом в 1,47 ($p<0,05$), а содержание α-нафтилбутиратэстеразопозитивных Т-лимфоцитов – в 1,45 раза ($p<0,05$).

Несомненно, что ингибирование АХЭ ипритом в сублетальных дозах имеет существенное значение в формировании постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. При этом Т-лимфоциты (в частности, Th1-клетки), возможно, существенно утрачивают свои функции, что приводит к снижению Т-зависимых иммунных реакций. Это можно объяснить избыточной стимуляцией ацетилхолином м- и н-холинорецепторов, наличие которых на Т-лимфоцитах доказано [Забродский П.Ф., 2002]. В результате нарушается оптимальное соотношение цАМФ/цГМФ в иммуноцитах, необходимое для их пролиферации и дифференцировки. Безусловно, в реализации иммунотоксических эффектов иприта антихолинэстеразное действие по сравнению с другими многочисленными механизмами играет не основную роль, однако это не исключает его значение в формировании Т-

зависимого иммунодефицита.

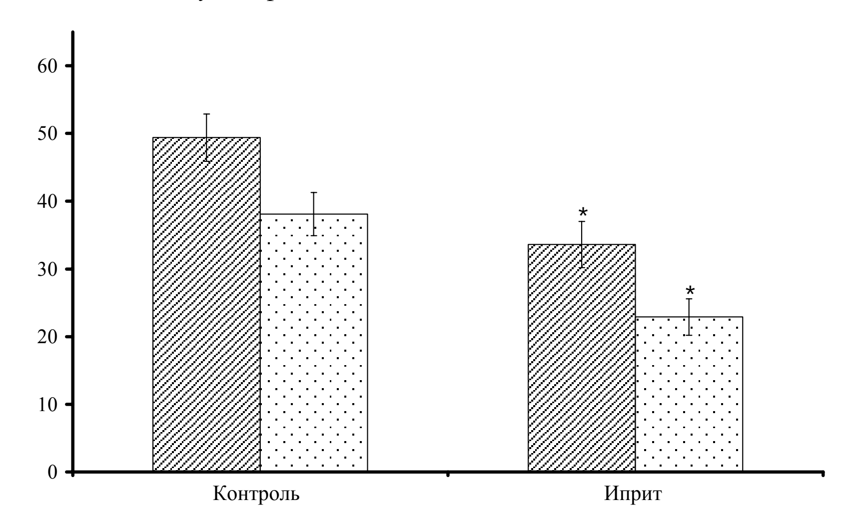


Рис. 6.8. - Влияние острой интоксикации ипритом (0,75 DL_{50}) на содержание α-нафтил-AS-ацетатэстеразопозитивных и α-нафтилбутиратэстеразопозитивных клеток в спленоцитах крыс Вистар (M±m, n=9-11):
▨ – содержание α-нафтил-AS-ацетатэстеразопозитивных клеток, %; ⬚ – содержание α-нафтил-бутиратэстеразопозитивных клеток,%;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Под влиянием острого отравления сернистым ипритом в крови через 4 сут существенно снижается активность каталазы, пероксидазы при увеличении суммарной продукции радикалов и малонового диальдегида (табл. 6.11) [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2006]. Это свидетельствует о выраженной инициации под влиянием ТХ ПОЛ.

Таблица 6.11

Влияние сернистого иприта (0,5 DL_{50}) на показатели ПОЛ у крыс (M±m, n =7-10)

Серии опытов	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Суммарная продукция радикалов, усл. ед.	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	260,3±25,1	47,3±3,9	31,5±3,3	6,23±0,35
Иприт	135,2±14,3*	25,2±2,3*	55,3±4,8*	8,81±0,39*

Примечание: * –p<0,05 по сравнению с контролем.

Полученные нами результаты экспериментальных исследований, а также данные литературы [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б, Корнева Е. А. И соавт., 1978, 1985, 1988, 1990; Rey A. et al., 1984; Maslinski W. et al., 1983, 1992] дают основания считать, что поражение системы иммунитета сернистым ипритом обусловлено супрессией кооперации Т- и В-лимфоцитов, приводящей к снижению антителообразования вследствие преимущественного поражения Т-лимфоцитов; активацией гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (стресс-реакция), приводящей к перераспределение лимфоцитов между органами системы иммунитета и иммуносупрессивному действию кортикостероидов. Кроме того, сернистый иприт оказывает мембранотоксическое действие, нарушает нуклеиновый обмен иммунокомпетентных клеток [Забродский П.Ф., 2002; McManus J.et al., 2005], продукцию лимфокинов иммуноцитами [Arroyo C.M. et al., 2004], ингибируя многочисленные энзимы ИКК (ацетилхолинэстеразу, α-нафтил-AS-ацетатэстеразу и α-нафтилбутиратэстеразу и других) и инициируя ПОЛ, может вызывать нарушение гемопоэза и гибель иммуноцитов (апоптоз).

6.3. Фармакологическая коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации сернистым ипритом и люизитом

Нами показано [Забродский П.Ф. и соавт., 2002], что после острого отравления люизитом (табл. 6.12) происходило увеличение летальности крыс от экспериментального перитонита, вызванного *E.coli*, на 25% (в 2 раза) [p>0,05]. Полученные данные свидетельствуют об отрицательном влиянии люизита (2-хлорэтенилдихлорарсина) на антиинфекционную НРО. Под влиянием люизита происходило снижение $ЛД_{50}$ *E.coli* и Et_{50} (p<0,05), а использование унитиола в качестве антидота статистически значимо (p<0,05) снижало супрессию данных показателей. При использовании унитиола после отравления крыс люизитом отмечалось уменьшение снижения БАСК (p>0,05), сывороточного содержания лизоцима, ТКБ (β-лизина), индекса активности нейтрофилов в НСТ-тесте, обсемененности периферической крови (p<0,05) и селезенки *E. coli* (p>0,05) по сравнению с показателями при остром отравлении. При этом полного восстановления до контрольных значений, значительно

сниженных действием 2-хлорэтенилдихлорарсина исследованных показателей доиммунных механизмов защиты (НРО), не происходило.

Т а б л и ц а 6.12

Влияние унитиола на доиммунные механизмы защиты при остром отравлении крыс люизитом (M±m)

Показатель	Контроль	Люизит	Люизит + унитиол	Уровень достоверности p<0,05
	1	2	3	4
Летальность, %	25,0±9,7 (20)	50,0±14,4 (12)	37,5 ± 12,1 (16)	
LD_{50} *E. coli*, 10^9 микр. тел	2,41±0,19 (20)	1,77 ± 0,15 (12)	1,98 ± 0,13 (16)	1-2, 1-3, 2-3
Et_{50} ,ч	19,4 ± 1,7 (20)	9,5 ± 1,2 (12)	14,3 ± 2,0 (16)	1-2, 1-3, 2-3
БАСК, %	75,1±3,8 (32)	49,4±4,3 (16)	59,9±5,1 (16)	1-2, 1-3
Лизоцим, мг/л	8,3±0,9 (32)	3,5±0,4 (16)	5,3±0,5* (16)	1-2, 1-3, 2-3
ТКБ, %	57,2±2,1 (32)	37,1±3,4 (16)	46,5±3,1 (15)	1-2, 1-3, 2-3
Фагоцитоз (НСТ-тест)	0,20±0,02 (28)	0,08±0,01 (14)	0,14±0,02 (14)	1-2, 1-3, 2-3
Обсемененность *E. coli* периферической крови (0,05 мл)	37,5±8,1 (8)	85,0±7,7 (8)	62,0±8,0 (8)	1-2, 1-3, 2-3
Число *E. coli* в селезенке, 10^2	77,1±10,9 (10)	125,0±11,4 (10)	91,0±11,3 (10)	1-2, 2-3

Примечание: в скобках – число животных.

Установлено (табл.6.13), что унитиол при острой интоксикации люизитом вызывал значительно более выраженное повышение (р<0,05) гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену (в 2,16 раз) по сравнению с реакцией на тимуснезависимый антиген (в 1,43 раза) по отношению к показателям при отравлении. Более выраженная супрессия Т-независимого антителообразования при действии люизита связана с большим числом клеток и реакций, участвующих в его реализации, по сравнению с тимусзависимой антителопродукцией. Унитиол оказывал также выраженное защитное действие в отношении АЗКЦ и реакции ГЗТ, супрессию которых

вызывал люизит. Унитиол достоверно повышал, сниженную 2-хлорэтенилдихлорарсином ЕЦ.

Т а б л и ц а 6.13

Влияние унитиола на гуморальные и клеточные иммунные реакции при остром отравлении люизитом (M±m; n=6-9)

Показатель	Контроль	Люизит	Люизит + унитиол	Уровень достоверности p<0,05
	1	2	3	4
АОК к ЭБ, 10^3	38,1 ± 7,5	10,1 ± 2,5	21,8 ± 4,3	1-2, 1-3, 2-3
АОК к Vi-Ag, 10^3	24,4 ± 2,3	12,3 ± 2,7	17,6 ± 2,4	1-2, 1-3
ЕЦ ,%	37,1 ± 5,5 (8)	16,3 ± 2,1 (7)	23,4 ± 2,8 (7)	1-2, 1-3,2-3
АЗКЦ, %	14,1 ± 1,5	4,2 ± 1,0	8,1 ± 1,7	1-2, 1-3, 2-3
ГЗТ, %	29,9 ± 2,8	14,9 ± 2,3	21,0 ± 2,1	1-2, 1-3,2-3

Антидотная терапия унитиолом вызывала повышение показателей системы иммунитета, значительно сниженных действием люизитом, однако при этом полного восстановления исследованных параметров не отмечалось.

Уменьшение иммунотоксичности люизита унитиолом, тем не менее, не обеспечивает полного восстановления значительно сниженных действием этого токсиканта исследованных показателей НРО и системы иммунитета. Это предполагает обязательное включение в схему лечения острой интоксикации иммуностимуляторов, повышающих показатели НРО, активность ЕКК и К-клеток, основных гуморальных и клеточных иммунных реакций.

Аналогичные опыты получены при применениии унитиола после отравления метаарсенитом натрия [П. Ф. Забродский и соавт., 2006].

Антиоксидантные, иммуностимулирующие, детоксиксикационные, мембраностабизизирующие свойства полиоксидония [Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005] позволяют предполагать возможность снижения при его применении поражения системы иммунитета различными токсикантами, которые могут приводить к формированию вторичных иммунодефицитных состояний [Забродский П. Ф., 2002], в частности ипритом и люизитом.

В опытах на белых крысах было показано [Забродский П. Ф., Мандыч В.Г., Германчук В.Г., 2006], что под влиянием острого отравления ипритом и люизитом в дозе 0,5 DL_{50} (табл. 6.14) происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену по сравнению с контрольным уровнем

соответственно в 4,02 и 3,08 раза (p<0,05) и в меньшей степени – к Т-независимому - соответственно в 2,58 и 1,81 раза (p<0,05).

Т а б л и ц а 6.14

Влияние полиоксидония на показатели системы иммунитета крыс при острой интоксикации ипритом и люизитом (0,5 DL_{50}) (M±m, n =7-10)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	АЗКЦ, %	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	43,4±3,5	31,2±2,6	13,2±1,4	35,1±3,3	37,9±2,5
Иприт	10,8±1,5*	12,1±1,9*	5,0±0,9*	13,7±2,4*	18,5±1,9*
Иприт +ПО	29,7±2,7*°	23,7±2,2*°	8,8±1,1*°	23,0±2,7*°	29,0±2,6*°
Люизит	14,1±1,8*	17,2±2,0*	6,3±0,8*	17,2±2,3*	21,4±2,1*
Люизит +ПО	36,5±3,3	26,7±2,7	10,1±1,2	27,5±3,0	33,3±2,3

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контролем; * – p<0,05 по сравнению с контролем и показателем при интоксикации.

После действия иприта отмечалась также существенная редукция АЗКЦ, активности ЕКК и реакции ГЗТ соответственно в 2,64; 2,56 и 2,05 раза (p<0,05). Аналогичная, но менее выраженная супрессия данных параметров была выявлена после острой интоксикации люизитом.

Применение полиоксидония (ПО) в дозе 100 мкг/кг в течение 4 сут частично восстанавливало показатели системы иммунитета после острого действия ТХ, при этом после отравления люизитом статистически значимых различий параметров по сравнению с контролем не выявлено (p>0,05).

ТХ существенно активировали ПОЛ, существенно снижая активность АОС – каталазы, пероксидазы (табл. 6.15). Действие иприта вызывало уменьшение данных показателей соответственно в 1,92 и 1,88 раза (p<0,05), а люизита – в 1,66 и 1,57 раза (p<0,05).

Т а б л и ц а 6.15

Влияние полиоксидония на показатели ПОЛ крыс после острой ипритом и люизитом (0,5 DL_{50}) (M±m, n =7-10)

Серии опытов	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Суммарная продукция радикалов, усл. ед.	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	260,3±25,1	47,3±3,9	31,5±3,3	6,23±0,35
Иприт	135,2±14,3*	25,2±2,3*	55,3±4,8*	8,81±0,39*

Иприт +ПО	188,5±19,4*	32,8±3,0*°	40,2±3,7*°	7,56±0,30*°
Люизит	157,1±22,7*	30,1±2,9*	49,0±3,8*	7,98±0,32*
Люизит +ПО	214,3±21,2	41,7±3,4	38,9±4,0	7,02±0,33

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контролем; * – $p<0,05$ по сравнению с контролем и показателем при интоксикации.

Под влиянием иприта и люизита существенно увеличивалось содержание в крови СПР соответственно в 1,75 и 1,56 раза ($p<0,05$) и МДА – в 1,41 и 1,28 раза ($p<0,05$).

Использование ПО приводило к частичному восстановлению показателей ПОЛ после острой интоксикации люизитом (при этом статистически достоверных различий с контролем не выявлено – $p>0,05$) и существенному увеличению параметров АОС и снижению суммарной продукции радикалов (СПР) и малонового диальдегида иммунного ответа к Т-зависимому антигену по сравнению с контрольным уровнем соответственно в 4,02 и 3,08 раза ($p<0,05$) и в меньшей степени – к Т-независимому - соответственно в 2,58 и 1,81 раза ($p<0,05$). После действия иприта отмечалась также существенная редукция АЗКЦ, активности ЕКК и реакции ГЗТ соответственно в 2,64; 2,56 и 2,05 раза ($p<0,05$). Аналогичная, но менее выраженная супрессия данных параметров была выявлена после острой интоксикации люизитом.

МДА ($p<0,05$) после отравления ипритом по сравнению с показателями при интоксикации. Следует отметить, что при действии данного ТХ в комбинации с ПО установлены статистически значимые различия параметров ПОЛ по сравнению с контрольными значениями - $p<0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что одним из механизмов снижения параметров системы иммунитета под влиянием иприта и люизита является инициация ПОЛ (реализация одного из механизмов общей иммунотоксичности ядов [Забродский П.Ф., 2002]). Это подтверждается высокими коэффициентами корреляции (КК) между числом АОК к ЭБ при остром отравлении ипритом и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс, которые составляли соответственно 0,779±0,148 ($p<0,05$) и 0,795±0,139 ($p<0,05$). КК при острых отравлениях люизитом между ЕЦ и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс были равны 0,760±0,160 и 0,787±0,144 ($p<0,05$). Установлена обратная корреляция между числом АОК к ЭБ при остром действии ипритом и люизитом и содержанием МДА, значение коэффициента которой составило соответственно -0,770±0,154 и -0,755±0,162 ($p<0,05$).

ПО практически полностью и частично восстанавливает параметры

системы иммунитета и связанные с ними показатели ПОЛ (и АОС) соответственно при остром отравлении люизитом и ипритом вследствие антиоксидантных, иммуностимулирующих, детоксиксикационных и мембраностабилизирующих свойств иммуностимулятора [Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005].

Таким образом, применение полиоксидония в дозе 100 мкг/кг в течение 4 сут (ежедневно, однократно) после острого действия иприта и люизита (0,5 DL_{50}) соответственно частично и практически полностью восстанавливает параметры иммунной системы и связанные с ними показатели ПОЛ.

***

Подводя итог данной главе, можно заключить, что поражение системы иммунитета токсичными химикатами кожно-нарывного действия (в том числе соединениями трехвалентного мышьяка) связано с активацией гипоталамо-гипофозарно-адреналовой системы (постинтоксикационная стресс-реакция), ведущей к реализации иммуносупрессивного действия кортикостероидов, со снижением содержания иммуноцитов в органах системы иммунитета (некроз и апоптоз клеток); нарушением кооперации Т- и В-лимфоцитов, приводящим к редукции антителообразования вследствие преимущественного поражения Т-лимфоцитов, ингибированием эстераз Т-клеток и инициацией ПОЛ иммуноцитов. Уменьшение иммунотоксичности люизита унитиолом не обеспечивает полного восстановления значительно сниженных действием этого токсиканта показателей доиммунных механизмов защиты от инфекций (неспецифической резистентности организма) и системы иммунитета. Применение полиоксидония после острого действия сернистого иприта (0,5 DL_{50}) восстанавливает параметры иммунной системы и связанные с ними показатели ПОЛ частично, а после действия люизита – практически полностью.

ГЛАВА 7. ИММУНОТОКСИКОЛОГИЯ ЯДОВИТЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

7.1. Общая характеристика отравлений ядовитыми техническими жидкостями

Наибольшую опасность вследствие высокой токсичности и вероятности смертельных отравлений представляют спирты (в том числе жидкости на основе гликолей) и хлорированные углеводороды (ХУ).

Проблема изучения иммунотоксичности спиртов и хлорированных углеводородов в настоящее время крайне актуальна, так как частотота отравлений данными соединениями в последнее десятилетие существенно увеличилась [Бонитенко Е.Ю., 1995; Немцов А.В., 1995; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Забродский П.Ф. и соавт., 2005].

Область применения спиртов и хлорированных углеводородов (1,2-дихлорэтана - ДХЭ, тетрахлорметана - ТХМ, трихлорэтилена - ТХЭ) весьма обширна. Спирты и хлорированные углеводороды, как уже упоминалось, широко используются в качестве компонентов для тормозных жидкостей, антифризов, антиобледенителей, горючего [Бонитенко Е.Ю., 1995; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; 2004], в органическом синтезе, как растворители, дезинфицирующие средства, пестициды, в военной практике - для экстракции отравляющих веществ при их индикации (ДХЭ) [Нацюк М.В., 1979; Гембицкий Е.В., Бонитенко Ю.Ю., 1983; Тиунов Л.А., 1990; Забродский П.Ф. и соавт., 2005]. Следует отметить, что дихлорэтан является растворителем для боевого применения ипритно-люизитной смеси, а также для создания хлорсодержащих рецептур - дегазаторов вещества VX и сернистого иприта.

В последние годы наибольшие темпы роста уровня острых отравлений характерны в отношении этанола, этиленгликоля и метанола [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Mokhlesi B. et al., 2003a], которые по числу летальных исходов занимают первое место среди интоксикаций другими химическими соединениями [Нужный В.П., Прихожан Л.М., 1996; Нужный В.П., 2001].

Алкогольные отравления в течение многих лет занимают ведущее место среди бытовых отравлений по абсолютному числу смертельных исходов (в России более 60% всех смертельных отравлений обусловлены алкоголем) [Лужников Е.А., Костомарова Л.А., 2000;

Бонитенко Ю.Ю., Куценко С.А., 2004]. Уровень отравлений спиртами высок и в зарубежных странах. Так, по данным Европейской ассоциации центров отравлений и клинических токсикологов, в странах Европейского Содружества в 2000 году 37451 человек были госпитализированы после острых отравлений спиртами, а их частота среди отравлений другими веществами составила 5,4% [Mokhlesi B. et al., 2003a].

Постоянно увеличивающееся потребление этилового спирта [Ливанов Г.А., 2000; Бонитенко Ю.Ю., Куценко С.А., 2004] может сопровождаться использованием вместо него с целью опьянения ядовитых спиртов и хлорированных углеводородов. При этом возможны групповые острые отравления [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; 2004]. По данным литературы летальность при отравлении этиленгликолем и метанолом колеблется от 10 до 50%. [Бонитенко Е.Ю, 1995; Лужников Е.А. и соавт., 1989; 2000]. Исследования Нужного В.П. и соавт. (2004) показали, что образцы нелегальной алкогольной продукции содержат метанол (от 1 до 7 мг/л) и этиленгликоль (до 380 мг/л).

Одним из ведущих факторов демографического кризиса в России является рост потребления алкоголя. При этом смертность от случайных отравлений этанолом за последние годы неуклонно увеличивается [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991; Нужный В.П. и соавт. 1996, 2001, 2004].

За 1999-2005 гг. в наркологическое отделение больницы №3 и другие лечебные учреждения г. Саратова поступление больных вследствие острых отравлений этанолом и его суррогатами возросло в 3,2 раза, это относится и к госпиталям Министерства Обороны РФ, где более 25% острых отравлений относятся к интоксикациям алкоголем и его суррогатами. Аналогичные данные характерны для Санкт-Петербургского центра лечения острых отравлений [Бонитенко Е.Ю., 1995; Ливанов Г.А. и соавт. 2001; Фридман К.Б. и соавт., 2003; Бонитенко Ю.Ю., Куценко С.А., 2004].

В последнее десятилетие частота смертельных исходов после острых интоксикаций дихлорэтаном и тетрахлорметаном составляет от 20 до 96% [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Елькин А.И. и соавт., 2004]. Пациенты с отравлениями тетрахлорметаном составляют до 60% всех больных с токсическим поражением печени [Голиков С.Н. и соавт., 1986; Венгеровский А.И., Седых И.М., Саратиков А.С., 1993]. Особую опасность дихлорэтан и тетрахлорметан могут представлять при аварийных ситуациях на химических объектах,

когда в силу их высокой летучести, ингаляционным отравлениям может подвергаться большое количество людей.

Анализ источников литературы, посвященных патогенезу поражения различными ядами печени, позволяет считать, что данный эффект тесно связан с реализацией иммунных реакций и функцией цитокинов [Kaplowitz N., 2004]. Токсиканты и их метаболиты в результате взаимодействия с протеинами, липидами и нуклеиновыми кислотами гепатоцитов, а также вследствие инициирования ПОЛ приводят к поражению митохрондрий и последующему некрозу клеток. Кроме того, реализация повреждений, связанных с «внутриклеточным стрессом» (повреждение различных органелл клеток – ядра, микротрубочек, эндоплазматического ретикулума и др.), вызывает апоптоз гепатоцитов. К апоптозу приводит также увеличение чувствительности клеток к цитокинам, в частности к факторам некроза опухоли (TNF). Являясь гаптенами, а также инициируя их появление вследствие повреждения цитохрома Р-450 и других энзимов, гепатотропные яды активируют иммунные реакции, в частности апоптоз, вследствие действия гранзимов ЕКК [Kaplowitz N., 2004].

Общим в токсикокинетике спиртов и хлорированных углеводородов является их способность метаболизироваться с образованием более токсичных соединений (летальный синтез) [Лужников Е.А., Костомарова Л.А., 2000; Маркизова Н.Ф. и соавт. 2004].

Не вызывает сомнения, что одной из причин танатогенеза при острых отравлениях спиртами и хлорированными углеводородами являются инфекционные заболевания и осложнения (постинтоксикационные пневмонии), обусловленные снижением НРО и показателей иммунной системы [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Забродский П.Ф. и соавт., 1998, 2002, 2004а, 2004б; Friedman H. et al., 2003]. При этом механизм и характер изменений НРО и иммунной защиты в условиях острой интоксикации спиртами и хлорированными углеводородами в настоящее время изучен недостаточно, не исследована взаимосвязь нарушений иммунного гомеостаза с перекисным окислением липидов (ПОЛ) и изменением функции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы [Алиев Н.А., 1991; Быкова А.А., Сединина Н.С., 2002; Забродский П. Ф., 1998; 1999; 2002; Descotes J., 1986; Luster M. I. et al., 1987; Friedman H. et al., 2003].

Изучение влияния патогенетически обоснованной коррекции

нарушений НРО и систему иммунитета при остром действии спиртов и хлорированных углеводородов имеет как теоретическое значение, раскрывая неизвестные механизмы регуляции иммуногенеза, так и практическое, позволяя обеспечить профилактику и лечение возникающих при острых и хронических интоксикациях спиртами и хлорированными углеводородами многочисленных инфекционных заболеваний в результате дисфункций системы иммунитета [Хаитов Р. М. и соавт., 1995; Агапов В.И. и соавт., 2004; Забродский П. Ф., 1998, 2002, 2004; Descotes J., 1986; Luster M. I. et al., 1987; Georgiev V. S, Yamaguuchi H.,1993].

Таким образом, учитывая достаточно широкое распространение и использование в промышленности, технике и быту спиртов и хлорированных углеводородов, высокую летальность при отравлении ими, следует заключить, что проблема изучения механизмов и характера нарушений доиммунных механизмов защиты и иммунного статуса при острых отравлениях данными ЯТХ, исследование возможности коррекции данных нарушений в постинтоксикационный период важна как в теоретическом, так и в практическом отношении.

7.2. Метанол

7.2.1.Токсикология метанола. Иммунотоксикологическая характеристика

Впервые метиловый спирт был получен при сухой перегонке древесины в 1661 г. Метиловый спирт (CH_3OH, метанол, карбинол, древесный спирт) – первичный, одноатомный, алифатический алкоголь, представляет собой бесцветную прозрачную малолетучую огнеопасную жидкость, по вкусу и запаху напоминающую этиловый спирт. Молекулярная масса метанола составляет 32,04 Д, удельный вес – 0,792, температура кипения 64,7 ^{0}С. Метанол легко смешивается с водой, эфиром, ацетоном и спиртами в любых соотношениях, является хорошим растворителем жиров, масел и других органических веществ. Широко применяется в промышленности и лабораторном деле как растворитель, компонент ряда моторных топлив, в качестве реагента в органическом синтезе, производстве полимерных материалов, лаков, красок. Используется для денатурирования этилового спирта, входит в состав ряда антифризов [Бонитенко Е.Ю., 1995; Немцов А.В., 1995; Забродский П.Ф., 1999а; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; Tephly T.R.,

1991].

Метанол получают из оксида углерода и водорода под давлением 6 мПа в присутствии катализаторов CuO / Cr_2O_3 при температуре 200 – 300 ºС:

$$CO + 2H_2 \rightarrow CH_3OH$$

Отравления чаще всего связаны с использованием его ошибочно вместо этилового спирта с целью опьянения, а также при вдыхании его паров или при попадании на кожные покровы. Отмечается разная индивидуальная чувствительность человека к метанолу. Смертельная доза при приеме внутрь колеблется от 50 до 500 мл (в среднем она равна 100 мл) [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. 2000; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001]. Летальный уровень в крови метанола составляет 0,8 г/л [Фридман Л.С. и соавт., 1998].

Метиловый спирт быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте, но в отличие от этилового спирта (этанола) медленнее окисляется и выделяется из организма (до 5 – 7 суток). Уже через 1 час после перорального приема в крови обнаруживается максимальная концентрация метанола [Бонитенко Е.Ю., 1995; Немцов А.В., 1995;. Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001].

Известно, что часть всосавшегося метанола выделяется в неизмененном виде с выдыхаемым воздухом (1%) и с мочой (до 5%). Другая часть спирта медленно метаболизируется. Кроме того, установлено, что всосавшийся метанол и продукты его метаболизма в течение нескольких суток после отравления также выделяются слизистой оболочкой в просвет желудка и снова затем всасываются в кишечнике. Метаболизм метанола протекает, в основном, в печени, обладающей наибольшей окислительной способностью по отношению к спиртам (до 95%) [Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982].

Данные литературы свидетельствуют о том, что метанол быстро всасывается и уже через 1–1,5 ч концентрация его в крови достигает максимума. Спирт выделяется из организма медленно, обнаруживается в биосредах до 3-7 сут [Sejersted O.M., 1981; Tephly T.R., 1991; Mokhlesi B. et al., 2003б].

Токсичность метанола в основном обусловлена действием продуктов его метаболизма в организме – формиатов (формальдегида и муравьиной кислоты). Дальнейшая биотрансформация метаболитов метанола осуществляется до двуокиси углерода и воды и формила-S-КоА. Окисление спиртов в организме происходит с участием трех

ферментных систем – алкогольдегидрогеназы, каталазы и микросомальной этанолокисляющей системы. Трудности изучения патогенеза отравлений метанола связаны с тем, что у человека, приматов и других экспериментальных животных (кроме крыс, мышей и других грызунов) окисление метанолом происходит неодинаково – в первом случае основным энзимом является алкогольдегидрогеназы, во втором – каталаза [Kini M.M., Cooper J.R., 1962; Tephly T.R., 1983]. До недавнего времени считалось, что поражение нервной ткани, в том числе зрительного нерва, вызывает формальдегид. Известно, что он способен подавлять метаболизм в нейронах, активно вмешиваться в обмен нейромедиаторов [Румянцев А.П. и соавт., 1981]. Однако K.E McMartin et al. (1980) показали, что у приматов при отравлении метанолом период полураспада формальдегида составляет 1,5 мин. Кроме того, ими не обнаружено накопления этого метаболита в печени, почках, мозге. Это связано, вероятно, с быстрым расщеплением формальдегида мощными ферментными системами – НАД-зависимой формальдегиддегидрогеназой (К.Ф.1.2.1.1.) и альдегиддегидрогеназой (К.Ф.1.2.1.3.).

Муравьиная кислота, в отличие от формальдегида, образующаяся при окислении метанола, является достаточно стойким соединением и аккумулируется в биосредах. Существуют два основных пути метаболизма формиата – каталазно-пероксидазный и фолатзависимый [Румянцев А.П. и соавт., 1981; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; Tephly T.R., 1991]. Второй путь потенциально более мощный, однако в связи с низким содержанием в организме человека фолиевой кислоты метаболизм формиата протекает с малой скоростью и задействована бывает преимущественно пероксидазно-каталазная система. Очевидно, именно формиат (муравьиная кислота) играет ведущую роль в патогенезе отравлений метанолом [Iokobsen D., 1984; Tephly T.R., 1991; Mokhlesi B. et al., 2003б]. Существуют две основные стадии метаболизма метанола, лимитирующие его токсичность. Это расщепление метанола алкогольдегидрогеназой, определяющее по существу образование формиата, и биотрансформация самого формиата, влияющая на темпы его накопления в тканях [Румянцев А.П. и соавт., 1981; Кожемякин Л.А. и соавт., 1991].

В процессе первого этапа биотрансформации метилового спирта, протекающего, в основном, в системе алкогольдегидрогеназой, образуется весьма токсичный продукт – формальдегид. В дальнейшем некоторое количество формальдегида связывается с белками, но большая его часть под влиянием альдегиддегидрогеназой

превращается в муравьиную кислоту. Следует отметить, что окисление формальдегида до муравьиной кислоты протекает очень быстро, в то время как кислота метаболизируется достаточно медленно [Немцов А.В., 1995;. Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001 Becker C.E., 1983].

Определенное значение в развитии токсического эффекта метилового спирта имеет и то обстоятельство, что в метаболизме метанола особую роль играет фолиевая кислота – один из кофакторов метанолокисляющих ферментных систем. Дальнейший метаболизм метанола до конечных продуктов его окисления (CO_2 и H_2O) завершается в лимоннокислом цикле Кребса [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004; Tephly T.R., 1991].

Метанол и его метаболиты считаются сильными нервно-сосудистыми и протоплазматическими ядами, нарушающими окислительное фосфорилирование, вызывая тем самым дефицит АТФ, особенно в тканях головного мозга и сетчатке глаз. Все это приводит к нарушению местного обмена биологически активных веществ и вызывает в итоге демиелинизацию и последующую атрофию зрительного нерва. В результате накопления в организме органических кислот (молочной, глюкуроновой и др) развивается метаболический ацидоз, который усиливается в результате нарушения окислительных процессов в организме из-за блокирующего влияния метанола и муравьиной кислоты на клеточные дыхательные ферменты. В то же время метаболический ацидоз и сам по себе блокирует клеточное дыхание [Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 2000; Tephly T.R., 1991].

Отравления метиловым спиртом характеризуются двухфазностью развития патологического процесса. Так, на первом этапе ведущим является наркотический эффект, связанный с действием исходного вещества, который может привести к развитию токсической комы с остановкой дыхания и сердечной деятельности. Однако по сравнению с другими спиртами метанол вызывает менее выраженное угнетение функции центральной нервной системы, даже несмотря на его высокие концентрации в биосредах. На втором этапе превалируют изменения паренхиматозных органов и метаболических процессов, обусловленные токсичными продуктами биотрансформаци метанола [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004].

В клинической картине интоксикации принято выделять период начальный, или опьянения, скрытый, или относительного благополучия, выраженных клинических проявлений, обратного

развития. Сразу после приема метанола развивается состояние, сходное с алкогольным опьянением, отличительной особенностью которого является то, что оно менее выражено, чем при приеме аналогичных доз этанола. Если опьянение вызвано только метанолом, то оно, как правило, не достигает наркотической фазы. Уже в этом периоде больные могут отмечать недомогание, общую слабость, головокружение, головную боль, тошноту. Состояние опьянения может смениться тяжелым сном, длительность которого прямо зависит от дозы яда [Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001.

Скрытый период может колебаться от 1 – 2 до 12 и более часов. При интоксикациях легкой степени и в ряде случаев при отравлениях средней степени скрытый период может достигать 2 – 3 сут. Затем наступает стадия выраженных клинических проявлений, которая манифестирует симптомами гастрита, токсической энцефалопатии и общей интоксикации. В этот период возникает появление и постепенное нарастание явлений токсической офтальмопатии, а в тяжелых случаях – развитие слепоты. На этом фоне при тяжелых интоксикациях быстро прогрессирует острая сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность. В более поздние сроки на первое место в клинической картине интоксикации выходят явления токсической гепато- и нефропатии и миокардиодистрофии. Среди метаболических нарушений ведущим является декомпенсированный метаболический ацидоз [Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Фридман Л.С. и соавт., 1998; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001]. По степени тяжести отравления различают легкую, средней тяжести, или офтальмическую, и тяжелую, генерализованную формы [Бадюгин И.С. и соавт., 1992].

Легкие отравления протекают с преобладанием симптомов острого гастрита (тошнота, рвота, боли в животе) и не резко выраженных общемозговых расстройств (общее недомогание, слабость, заторможенность, головная боль, головокружение). Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта в виде диспептического и болевого синдромов весьма характерны для клинической картины отравления метиловым спиртом. Более того, исследования, приведенные в США, свидетельствуют, что около 70% больных предъявляли жалобы на острые эпигастральные боли с симптомами острого гастрита. Часто присоединяются расстройства зрения: появляется "туман перед глазами", "мелькание", "потемнение в

глазах", расширение зрачков и снижение их реакции на свет [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004].

Следует отметить, что расширение зрачков с подавлением фотореакции – типичный признак отравления метанолом, который часто наблюдается в скрытом периоде, еще до появления выраженных нарушений зрения [Tephly T.R., 1991].

Продолжительность течения интоксикации легкой степени тяжести обычно не превышает 3 – 5 суток, однако явления астенизации сохраняются на протяжении более длительного времени. При средней тяжести отравления наблюдаются перечисленные выше симптомы, но ведущим является постепенно нарастающее нарушение зрения, вплоть до полной слепоты [Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К., 1983].

Бывают случаи, когда принявший внутрь метиловый спирт на следующее утро просыпается слепым, но затем через 3-4 дня зрение восстанавливается иногда до нормы. Однако это выздоровление не всегда носит стойкий характер, и через несколько дней зрение вновь ухудшается. У некоторых больных оно может вернуться к норме без дальнейшей тенденции к ухудшению. При офтальмоскопии в раннем периоде выявляют отек сетчатки и зрительного нерва, расширение вен и кровоизлияния. В ряде случаев неврит зрительного нерва и, как его проявление, сужение полей зрения [Мошкин Е.А. и соавт., 1980].

Для тяжелой интоксикации характерно быстрое и бурное развитие симптомов отравления. После относительно короткого скрытого периода появляются: резкая слабость, тошнота, рвота, сильные боли в животе, икроножных мышцах и поясничной области, затем сонливость, утрата сознания, нарушение дыхания, нарастание цианоза, расстройство сердечно-сосудистой деятельности вплоть до развития экзотоксического шока. В отдельных случаях возможно резкое возбуждение и клонические судороги.При осмотре зрачки расширены, вяло реагируют на свет, кожные покровы гиперемированы или цианотичны, одышка, пульс частый, мягкий, слабого наполнения, артериальное давление понижено.

При неблагоприятном течении интоксикации летальные исходы наблюдаются, как правило, на 1-2 сутки вследствие центральных нарушений дыхания и кровообращения. При благоприятном течении отмечается постепенное восстановление всех функций, а на первый план выходят нарушения зрения [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000].

Острые интоксикации метанолом характеризуются значительной тяжестью, высокой летальностью, в ряде случаев имеют групповой

или массовый характер, а также сопровождаются серьезной инвалидизацией лиц, перенесших интоксикацию [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991]. Максимум смертельных исходов при тяжелой степени отравления метанолом наблюдается в течение 1-3 сут, при этом смертность может составлять 60-70% [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004]. Одной из причин, приводящих к смертельным исходам, являются инфекционные осложнения, связанные со снижением показателей иммунного статуса [Забродский П.Ф., 1998].

В экспериментах на белых крысах установлено, что антидот метилового спирта этанол при острой интоксикации метанолом (1,0 LD_{50}) вызывает усиление его иммунотоксических эффектов: увеличение летальности животных от экспериментальной инфекции, уменьшение среднелетальной дозы *E. coli* (LD_{50} *E. coli*) и среднеэффективного времени жизни (Et_{50}) животных, снижение активности естественных клеток-киллеров, антителообразования к тимусзависимому антигену, антителозависимой клеточной цитотоксичности, реакции гиперчувствительности замедленного типа [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2001]. При этом не ясна роль гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и перекисного окисления липидов.

Нами показано [Забродский П.Ф., Руш М.Л., 2005), что после острого отравления этиленгликолем (данный спирт оказывает, как и метанол, токсический эффект вследствие образования продуктов биотрансформации по типу «летального синтеза» происходило увеличение летальности крыс от экспериментального перитонита, вызванного *E coli* в 1,57 раза. Применение этанола вызывало достоверное увеличение летальности по сравнению с контролем в 2,0 раза, что свидетельствует о снижении антиинфекционной резистентности организма (доиммунных механизмов защиты). Под влиянием этиленгликоля происходило снижение $ЛД_{50}$ *E. coli*, уменьшение среднеэффективного времени жизни животных и активности естественных клеток-киллеров ($p<0,05$). При применении антидота этиленгликоля этанола (этанол являтся антидотом и метанола) – конкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы – все описанные сдвиги были более выражены, причем по сравнению с изолированным действием этиленгликоля. Комбинация яда и антидота приводила к достоверному ($p<0,05$) снижению активности естественных клеток-киллеров и среднеэффективного времени жизни животных. Применение антидота этиленгликоля 4-метилпиразола (данное вещество является и антидотом метанола) –

безконкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы – после острой интоксикации этиленгликолем оказывало менее выраженное супрессирующее действие на показатели доиммунных механизмов защиты по сравнению с действием этиленгликоля в комбинации с этанолом. Изолированное применение 4-метилпиразола вызывало меньшую редукцию показателей, характеризующих доиммунные механизмы защиты, чем эффект острого отравления этиленгликолем. Полученные результаты свидетельствуют, что в целом комбинированное действие этиленгликоля и 4-метилпиразола характеризуется снижением иммунотоксичности этиленгликоля, а при остром отравлении этиленгликолем с применением этанола этот показатель возрастает. Следует отметить, что этанол и 4-метилпиразол снижали летальность крыс при остром отравлении этиленгликолем соответственно на 28,6 и 42,8 %. При исследовании влияния этанола и 4-метилпиразола при острой интоксикации этиленгликолем на клеточное звено иммунитета было установлено, что этанол усиливал супрессию антителозависимой клеточной цитотоксичности и реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Установлено, что под влиянием острой интоксикации этиленгликолем происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам. Этанол после применения этиленгликоля вызывал более выраженную супрессию этих параметров. Применение 4-метилпиразола после острого отравления этиленгликолем вызывало меньшую супрессию показателей системы иммунитета, чем действие острого отравления этиленгликолем, а также данного спирта в комбинации с этанолом. Выявленное усиление иммунотоксичности этиленгликоля этанолом и незначительное ее снижение 4-метилпиразолом предполагает обязательное включение в схему лечения острых интоксикаций иммуностимуляторов. Можно предположить, что при отравлении метанолом 4-метилпиразол и этанол будут вызывать аналогичные эффекты. Однако для подтверждения данной гипотезы необходимы соответствующие экспериментальные исследования.

Снижение функционально-метаболической активности нейтрофилов под влиянием метанола [Parthasarathy N. J., 2005] позволяет предположить, что данный спирт способен приводить к нарушению способности макрофагов к индукции тимусзависимого гуморального иммунного ответа.

Механизм супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций при отравлении метанолом исследован недостаточно. Данные литературы позволяют полагать, что снижение гуморальных и

клеточных иммунных реакций при отравлении метанолом в опытах на крысах и мышах происходит вследствие инициации ряда реакций, характеризующих ПОЛ [Забродский П.Ф., 1998; Tewari S. et al., 1982; Parthasarathy N.J. et al., 2006]. Вероятно, исходя из особенностей его токсикодинамики, он может быть обусловлен нарушением функции иммуноцитов в результате взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации метанола (формальдегида и муравьиной кислоты), ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [Iokobsen D., 1984; Gabon P.A. et al., 1986; Tephly T.R., 1991]. Нельзя исключить влияние на реализацию иммунных реакций после острой интоксикации метанолом изменения состояния нейроэндокринной системы, в частности, вследствие реализации стресс-реакции [Britton K.T. et al., 1992**,** Claman H.N., 1993; Dhabhar F. S. et al., 1996; Jeganathan P.S., Namasivayam A., 1998; 1999; Stephen B. et al., 2003], а также действие на иммуноциты неметаболизированной молекулы метанола [Забродский П.Ф., 1998].

Нами показано [Серов В.В., Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и др., 2006], что под влиянием метанола (0,75 $ЛД_{50}$) снижалось число Т-лимфоцитов в тимусе и количество лимфоцитов в селезенке (p<0,05) соответственно. В костном мозге и лимфоузлах лимфоциты через 1 и 3 сут уменьшались несущественно (табл. 7.1).

Т а б л и ц а 7.1

Изменение содержания лимфоцитов ($\cdot 10^7$) в органах системы иммунитета крыс под влиянием острого отравления метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) через 1-6 сут, M±m; n=7-9)

Срок наблюдения, сут	Тимус	Костный мозг	Селезенка	Лимфоузлы
Контроль	39,8±3,4	4,25±0,31	78,4±6,4	2,07±0,18
1	24,2±2,5*	3,67±0,22	60,1±5,2*	1,78±0,12
3	20,5±2,0*	3,54±0,36	54,0±5,0*	1,69±0,15
6	32,1±3,3	4,03±0,38	70,6±6,1	1,97±0,19

Примечание: * - различие с контролем достоверно - p<0,05.

При изучении содержания Т- и В-лимфоцитов под влиянием метанола в органах системы иммунитета белых мышей установлено (табл. 7.2), что данный спирт через 2 сут уменьшают содержание Т-лимфоцитов в тимусе и В-клеток в селезенке. При этом в селезенке содержание В-клеток уменьшается в 1,35 раза, а Т-лимфоцитов – в 1,16 раза. Отмечалась тенденция к снижению содержания данных популяций лимфоцитов в других органах системы иммунитета. Через

6 сут исследованные показатели восстанавливались до контрольных значений.

Метанол способен снижать содержание в органах системы иммунитета лимфоцитов в результате реализации стресс-реакции (действие гормонов коры надпочечников, в частности кортикостерона) [Мутускина Е.А. и соавт., 2001; Stephen B. et al., 2003], уменьшая миграцию в эти органы лимфоцитов из костного мозга [Петров Р. В. и соавт., 1981а, 1981б; Забродский П.Ф., 1998; Молотков А.О., 2004], подавляя пролиферацию лимфоцитов в тимусе и селезенке [Петров Р. В., 1987], усиливая миграцию из тимуса и селезенки лимфоцитов в циркулирующую кровь (реализация перераспределения вследствие действия кортикостероидов и катехоламинов) [Горизонтов П.Д., 1981а, Молотков А.О., 2004; 1981б; Dhabhar F. S. et al., 1996].

Т а б л и ц а 7.2

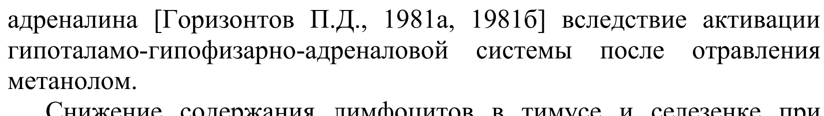
Влияние острого отравления метанолом (0,75 LD50) на содержание Т- и В-лимфоцитов в лимфоидных органах мышей через 2 и 6 сут ($\cdot 10^6$) [M+m; n=9-11]

Серии опытов	Время после интоксикации, сут	Орган	Т-лимфоциты	В-лимфоциты
Контроль	–	Тимус	59,3+3,2	–
		Селезенка	68,2+4,5	72,3+4,0
		КМ	–	3,5+0,3
		ЛУ	1,7+0,1	0,5+0,1
Метанол	2	Тимус	47,1+3,1*	-
		Селезенка	59,0+4,3	53,5+4,1*
		КМ	–	3,0+0,3
		ЛУ	1,7+0,1	0,3+0,1
	6	Тимус	64,1+3,5	–
		Селезенка	70,0+4,2	75,1+4,3
		КМ	–	3,2+0,3
		ЛУ	1,9+0,2	0,6+0,2

Примечание: КМ – костный мозг, ЛУ –лимфоузлы (паховые); * - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

Кроме данных процессов, после отравления метанолом возможен апоптоз лимфоцитов в органах системы иммунитета под влиянием кортикостероидов [Хаитов Р.М. и соавт., 2002] и действии на ИКК метаболитов спирта.

Редукция содержания лимфоцитов в селезенке, вероятно, связана с действием на α-адренорецепторные структуры этого органа


адреналина [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б] вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы после отравления метанолом.

Снижение содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке при действии метанола возможно вследствие реализации общетоксического эффекта спирта – подавление пролиферации иммуноцитов в результате ингибирования ферментов тканевого дыхания митохондрий иммуноцитров [Ротенберг Ю.С., 1982; Голиков С.Н. и соавт., 1986; Забродский П.Ф., 2002], а также инактивации формальдегидом и формиатом (метаболитами метанола) токсикантов многочисленных ферментных системы лимфоцитов [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004]. Не исключено, что метанол и его метаболиты могут нарушать процесс позитивной и негативной селекции Т-лимфоцитов [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Fink P.J., Bevan M.J., 1995].

Следует отметить, что миграция лимфоцитов из тимуса и селезенки зависит от времени суток [Dhabhar F. S. et al., 1996], от изменения функционального состояния органов системы иммунитета, тесно связанного с функцией гипоталамо-гипофизарно-адреналовой, симпатико-адреналовой и холинергической систем [Забродский П.Ф. и соавт., 2001; Claman H.N., 1983; Madden K. S., Livnat S., 1991; Dhabhar F. S. et al., 1996; Stephen B. et al., 2003].

Метанол и его метаболиты способны, ингибируя многочисленные энзимы иммунокомпетентных клеток и инициируя ПОЛ, вызывать нарушение гемопоэза и гибель иммуноцитов (апоптоз) [Хаитов Р.М и соавт., 2000; Durant S., 1986].

Выраженное действие метанола на В-лимфоциты, вероятно, обусловлено основным фолатзависимым метаболизмом формиата [Румянцев А.П. и соавт., 1981]. Можно предположить, что при этом формиат является своего рода антагонистом фолиевой кислоты в связи с ее практически полным потреблением. В отличие от антиметаболита фолиевой кислоты (таковым является метотрексат), формиат, активно ее используя, снижает ресурсы дигидрофолатредуктазы. В результате реализуются такие же эффекты, как и у иммунодепрессанта метотрексата - уменьшается образование тетрагидрофолиевой кислоты, ингибируется перенос метиловых групп, снижается синтез ДНК преимущественно в В-лимфоцитах [Ройт А. и соавт., 2000]. Вероятно, метанол способен нарушать и процесс селекции естественных аутореактивных В-лимфоцитов [Hayakawa K., 1999].

Биотрансформация метанола в организме происходит при участии алкогольдегидрогеназы, каталазы и этанолокисляющей системы

печени [Кожемякин Л. А. и соавт., 1991; Tephly T.R., 1991]. При этом, несмотря на видовые особенности метаболизма спиртов, связанные с участием в их биотрансформации у грызунов преимущественно каталазы, существующие в настоящее время представления о механизме токсического действия метилового спирта позволяют считать, что решающую роль в реализации его иммунотропных эффектов у человека и различных видов животных, по-видимому, играет продукт биотрансформации метанола - муравьиная кислота. Данное соединение обладает эффектом иммунодепрессанта метотрексата, который является антиметаболитом фолиевой кислоты [Ройт А. и соавт., 2000]. Муравьиная кислота метаболизируется преимущественно фолатзависимым путем [Румянцев А.П. и соавт., 1981]. При этом муравьиная кислота может являться своего рода антагонистом фолиевой кислоты в связи с ее практически полным потреблением. Снижая ресурсы дигидрофолатредуктазы, формиат, вероятно, уменьшает образование тетрагидрофолиевой кислоты, вследствие чего ингибируется перенос метиловых групп, снижается синтез ДНК преимущественно в В-лимфоцитах [Ройт А. и соавт., 2000]. Изложенное предположение основано на данных литературы и нуждается в дополнительном исследовании.

Проведенные нами исследования показали [Забродский П.Ф., Серов В.В., Мандыч В.Г., 2006], что острое отравление метанолом существенно уменьшает миграцию КОЕс из костного мозга в селезенку на 38,3% ($p<0,05$). Исследование КОЕс при остром отравлении метанолом в различных дозах показало прямо связанное с дозой снижение данного параметра. Так, при дозах 0,25; 0,50 и 0,75 DL_{50} число КОЕс уменьшалось соответственно в 1,18; 1,50 и 1,62 раза ($p<0,05$) соответственно. При острой интоксикации метанолом уменьшение числа КОЕс обусловлено, видимо, как специфическим (реализация эффектов стресс-реакции, инициация ПОЛ), так и неспецифическим действием спирта и его метаболитов (ингибирование ферментных систем, в частности, энзимов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования лимфоидной стволовой клетки и КОЕс). Данные эффекты могут приводить к редукции пролиферации КОЕс и/или увеличению их гибели [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981; Ротенберг Ю.С., 1982; Гаврилов О.К. и соавт., 1985; Переверзев А.Е., 1986; Беликов В.Г., 2001; Василенко О.А., 2004; Iokobsen D. et al., 1984; Gabon P.A. et al., 1986].

Снижение числа КОЕс прямо связано с миграцией В-клеток из

костного мозга [Петров Р.В. и соавт., 1981б], поэтому вполне обоснованно можно полагать, что метанол способен снижать так же и этот важный параметр индуктивной фазы иммуногенеза.

При исследовании содержания антителообразующих клеток (АОК) в селезенке к ЭБ у белых крыс после острой интоксикации метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) через 5 сут после иммунизации (при действии спирта в индуктивной фазе антителогенеза) было установлено существенное уменьшение числа АОК в 1,53 раза ($p<0,05$). При введении спирта в продуктивной фазе иммуногенеза число АОК к ЭБ уменьшалось в 2,07 раза ($p<0,05$).

Исследование тимусзависимого гуморального иммунного ответа после острого отравления метанолом показало прямо связанное с дозой его снижение (рис. 7.1).

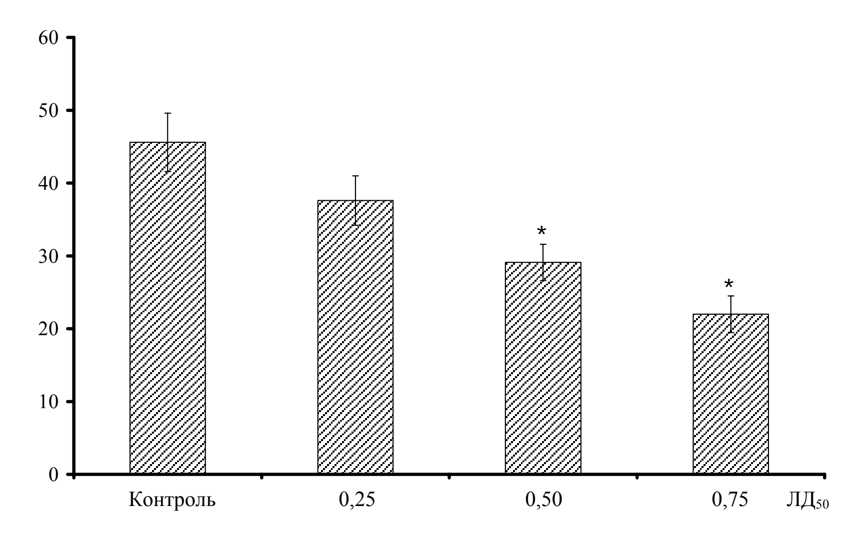


Рис. 7.1. Изменение содержания числа антителообразующих клеток к эритроцитам барана ($\cdot 10^3$), синтезирующим IgM, в селезенке белых крыс через 5 сут после острого отравления метанолом в зависимости от дозы в продуктивной фазе иммуногенеза ($M \pm m; n=6-7$).

* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Редукция функции тимусзависимого антителообразования под влиянием метанола может быть связана с реализацией различных механизмов иммунотоксических эффектов: на уровне систем – с активацией гипотпламо-гипофизарно-адреналовой системы, на уровне

взаимодействия клеток - со снижением кооперации Т-и В-лимфоцитов, на субклеточном уровне - с инициацией ПОЛ, мембранотоксическим действием [Голиков С.Н. и соавт., 1986; Забродский П.Ф., 2002], на молекулярном уровне – с ингибированием энзимов тканевого дыхания митохондрий иммуноцитов [Ротенберг Ю.С., 1982].

Данные литературы свидетельствуют, что стресс-реакция, вследствие психоэмоционального напряжения, может приводить к снижению АОК в селезенке мышей в 4 раза [Идова В.Г. и соавт., 2004] их-за увеличения содержания в крови глюкокортикоидов [Свирид В.Д., 2002]. Можно полагать, постинтоксикационный стресс оказывает существенное влияние на супрессию гуморального иммунного ответа.

Изучение антителообразования по числу антителообразующих клеток в селезенке мышей, синтезирующих IgG, через 8 сут после иммунизации при остром действии метанола показало, что данный спирт снижает исследованный показатель в индуктивной и продуктивной фазах антителогенеза соответственно в 1,87 и 2,46 раза ($p<0,05$).

Использованный метод оценки гуморальной иммунной реакции характеризует преимущественно функцию Th2-лимфоцитов и В-клеток, обеспечивающих синтез IgG1, составляющих около 70% общего числа молекул данного класса [Ройт А. и соавт., 2000]. Следует отметить, что Th1-лимфоциты обеспечивают возможность образования в этот период антителогенеза кроме IgM, так же и IgG2a, составляющих не более 20% от всех подклассов IgG [Ройт А. и соавт., 2000 Georgiev V.St., Albright J.E., 1993].

К факторам, супрессирующим синтез IgG при острой интоксикации метанолом, вероятно, относится эффект кортикостероидов [Casale G.P. et al., 1983; Stephen B. et al., 2003], а также инициация ПОЛ [Забродский П.Ф., 1998; 2000], снижение процессов тканевого дыхания в иммуноцитах вследствие взаимодействия метаболитов метанола с различными энзимами данного процесса, редукция окислительного фосфорилирования митохондрий иммунокомпетентных клеток [Ротенберг Ю.С., 1980; 1982; Забродский П. Ф., 1998, 2002].

При изучении кооперации Т- и В-лимфоцитов мышей СВА in vitro оценка функции этих популяций иммуноцитов в данной реакции осуществлялась по формированию АОК к ЭБ . Удельный вес Т- и В-клеток в обеспечении антителопродукции определяли путем сравнения числа АОК после инкубации той или иной популяции

лимфоцитов в течение 2 ч с различными концентрациями метанола. Кооперацию Т- и В-лимфоцитов можно рассматривать как механизм на уровне взаимодействия клеток, определяющий антителопродукцию. В модели in vitro роль клеток, представляющих антиген Т-лимфоцитам, вместо макрофагов выполняют В-клетки [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Ex vivo изучался данный процесс в модели, предусматривающей забор Т- или В-клеток через 1 сут от сингенных доноров после воздействия на них метанола для изучения in vitro кооперации этих клеток соответственно с В- или Т-лимфоцитами интактных животных.

В экспериментальных исследованиях показано [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Серов В.В., 2006], что метанол в концентрациях 1, 10 и 50 мМ в прямой зависимости от концентрации уменьшает кооперацию Т- и В-клеток. В большей степени поражались под влиянием метанола В-клетки. Так, при концентрации 50 мМ метанол снижал активность В- и Т-клеток соответственно в 2,59 и 1,76 раза ($p<0,05$).

При исследовании кооперации Т- и В-клеток после выделения их у мышей через 1 сут после введения им метанола в дозах 0,25 и 0,75 DL_{50}, установлено, что в прямой зависимости от дозы метанол поражал в большей степени В-клетки по сравнению с Т-лимфоцитами. Зарегистрировано существенное снижение активности В-лимфоцитов в эффекте кооперации клеток после действия метанола в дозе 0,75 DL_{50} в 3,01 раза, а Т-клеток - в 1,63 раза.

Метанол оказывает больший поражающий эффект в отношении В-клеток как в эксперименте in vitro, так и в опытах ex vivo. Вероятно, В-клетки более чувствительны к метанолу, метаболизм которого может происходить как in vitro в иммуноцитах [Козлов В.А. и соавт., 1991], так и в других органах и тканях организма при эксперименте ex vivo (при этом биотрансформация осуществляется в основном в печени, и на иммуноциты действуют формальдегид и формиат, содержашийся не только в лимфоцитах, но и в крови). Метанол при метаболизме in vivo образует формиат, который поражает В-клетки вследствие снижения ресурсов дигидрофолатредуктазы, образования тетрагидрофолиевой кислоты, что ингибирует перенос метиловых групп, уменьшает синтез ДНК преимущественно в В-лимфоцитах [Ройт А. и соавт., 2000]. Вероятно, формиат является в определенной степени функциональным антагонистом фолиевой кислоты в связи с ее быстрой утилизацией.

Воздействие in vitro метанола и его метаболитов (формальдегида и формиата) в прямой зависимости от концентрации вызывает редукцию

кооперации Т- и В-лимфоцитов, приводящую к ингибированию антителопродукции. Выявленный феномен связан с нарушением функции как Т-, так и В-клеток, причем активность В-лимфоцитов снижалась в большей степени (табл. 7.3).

Т а б л и ц а 7.3

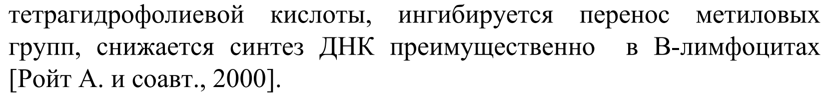
Влияние метанола и его метаболитов на кооперацию Т- и В-лимфоцитов мышей in vitro (число АОК на 106 В-клеток) [M+m, n=7-8]

Вещества	B0+T			B+T0		
С, мМ	10	100	500	10	100	500
М	217+21*	143+15*	114+13*	270+26	215+20*	154+16*
Ф	123+12*	101+8*	81+7*	159+15*	134+12*	109+10*
МК	109+11*	81+9*	63+6*	139+13*	110+11*º	92+7*º

Примечание: С – концентрация; М – метанол, Ф – формальдегид; МК – муравьиная кислота, контроль 1 и 2: В-клетки - 47±5 на 10^6 В-клеток; В+Т - 356±37 на 10^6 В-клеток; $В^0$, $Т^0$ - Т- и В-клетки в течение 2 ч до добавления ЭБ инкубировали с метанолом или его метаболитами; *- различие с контролем (В+Т) достоверно – р<0,05; º – р<0,05 по сравнению с $В^0$+Т.

При действии на Т - и В-лимфоциты метанола, формальдегида и формиата (муравьиной кислоты - МК) отмечалась прямо связанная с дозой редукция их способности участвовать в кооперации лимфоцитов, причем метанол по сравнению с его метаболитами поражал как Т-, так и В-лимфоциты в меньшей степени, чем его метаболиты. При этом спирт и его метаболиты обладали более выраженным токсическим эффектом в отношении В-клеток. По степени редукции функции В- и Т-клеток в эффекте кооперации клеток метаболит метанола формиат обладал большей токсичностью, чем формальдегид. Формиат оказывал больший супрессирующий эффект на функцию В-лимфоцитов, чем метанол и формальдегид в эквимолярных концентрациях.

Как уже указывалось, более выраженное повреждающие воздействие формиата в отношении В-клеток обусловлено основным фолатзависимым метаболизмом формиата [Румянцев А.П. и соавт., 1981]. Можно полагать, что формиат является своего рода антагонистом фолиевой кислоты в связи с ее практически полным потреблением в процессе биотрансформации метанола. В отличие от антиметаболита фолиевой кислоты (таковым является метотрексат) формиат, активно ее используя, снижает ресурсы дигидрофолатредуктазы. В результате реализуются такие же эффекты, как и у иммунодепрессанта метотрексата – уменьшается образование


тетрагидрофолиевой кислоты, ингибируется перенос метиловых групп, снижается синтез ДНК преимущественно в В-лимфоцитах [Ройт А. и соавт., 2000].

Механизм редукции активности Т- и В-клеток в процессе их кооперации, вероятно, связан с нарушением их функции как в результате прямого мембранотоксического эффекта метанола [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004], так и вследствие взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами энзимов лимфоцитов высокотоксичных продуктов их биотрансформации, ингибирования ими тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования и синтеза белков [Iokobsen D., 1984;Gabon P.A , 1986; Skrzydlewska E., Farbiszewski R., 1997], уменьшения активации Т- и В-лимфоцитов вследствие снижения продукции циклических нуклеотидов и секреции ИЛ-2 Т-клетками ИЛ-2 [Сухих Г.Т. и соавт., 1986; Козлов В.А. и соавт., 2001; Parker D.C., 1993] и ИЛ-4 [Шуршалина А.В. и соавт., 2001], а также в результате повреждения метаболитами метанола мембраны лизосом иммуноцитов с высвобождением и активацией кислых гидролаз [Ахматова М.А. и др., 1982] .

Таким образом, метанол вызывает прямо связанную с дозой и концентрацией редукцию кооперации Т- и В-клеток ex vivo и in vitro (при действии токсиканта преимущественно на В-клетки по сравнению с Т-лимфоцитами). При действии на Т- и В-лимфоциты метанола, формальдегида и формиата отмечалась прямо связанная с дозой редукция их способности участвовать в кооперации лимфоцитов, причем метанол по сравнению с его метаболитами поражал как Т-, так и В-лимфоциты в меньшей степени, чем его метаболиты. При этом метаболиты метанола обладали более выраженным токсическим эффектом в отношении В-клеток. По степени редукции функции В- и Т-клеток в эффекте кооперации лимфоцитов метаболит метанола формиат обладал большей токсичностью, чем формальдегид. Формиат оказывал больший супрессирующий эффект на функцию В-лимфоцитов, чем метанол и формальдегид в эквимолярных концентрациях.

Нами установлено, что при оценке содержания АОК к Vi-Ag в селезенке у крыс после острой интоксикации метанолом в индуктивной и продуктивной фазах антителогенеза через 5 суток после иммунизации данный показатель снижался соответственно в 1,56 и 2,31 раза - $p<0,05$.

Таким образом, под влиянием метанола в продуктивной фазе иммуногенеза по сравнению с индуктивным периодом происходит более выраженная редукция функции В-клеток (плазмоцитов) селезенки, синтезирующих IgM [Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. Более выраженный поражающий эффект метанола в отношении В-клеток по сравнению с Т-лимфоцитами, как уже указывалось, вероятно, обусловлен общим снижением фолиевой кислоты (в том числе и в В-лимфоцитах) вследствие ее усиленного потребления при метаболизме метанола.

Исследование тимуснезависимого гуморального иммунного ответа после острого отравления метанолом в продуктивной фазе иммуногенеза показало прямо связанное с дозой его снижение (рис. 7.2).

Таким образом, под влиянием острой интоксикации метанолом происходит дозозависимое снижение тимуснезависимого антителообразования (оцениваемого по числу АОК в селезенке, отражающему синтез IgM) в большей степени в продуктивный период антителогенеза по сравнению с индуктивной фазой антителопродукции.

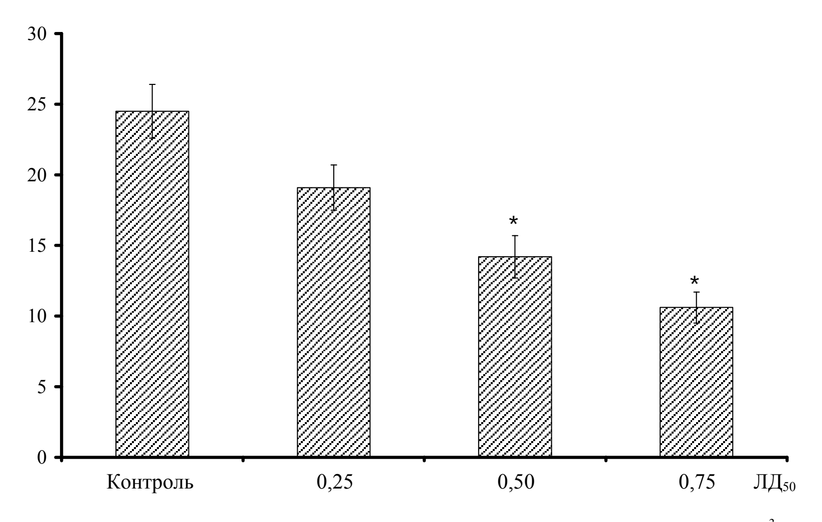


Рис. 7.2. Изменение содержания числа антителообразующих клеток к Vi-Ag ($\cdot 10^3$), синтезирующим IgM, в селезенке белых крыс через 5 сут после острого отравления

метанолом в зависимости от дозы в продуктивной фазе иммуногенеза, (M±m;n=7-10).
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Изучение формирования гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) под влиянием метанола в модели, не связанной с переносом клеток, позволяет установить их действие на клеточный иммунитет, в частности, на функцию Th1-лимфоцитов и продукцию ими γ-интерферона, β-фактора некроза опухоли и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) лимфоцитов [Ройт А. и соавт., 2000; Шуршалина А.В. и соавт., 2001; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Kimber I., 1996], а также на участвующие в реализации гиперчувствительности IV типа Т-клеток памяти и макрофагов [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. В адоптивной реакции (связанной с переносом клеток, to adopt – принимать, присваивать) существует возможность оценить действие токсикантов на вторичный клеточный иммунный ответ, формирование Th1-лимфоцитов в селезенке.

В экспериментах на крысах линии Август нами показано (рис. 7.3), что при острой интоксикации метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) происходит снижение реакции ГЗТ (без переноса клеток) и при переносе спленоцитов крысам-реципиентам от крыс-доноров ($p<0,05$).

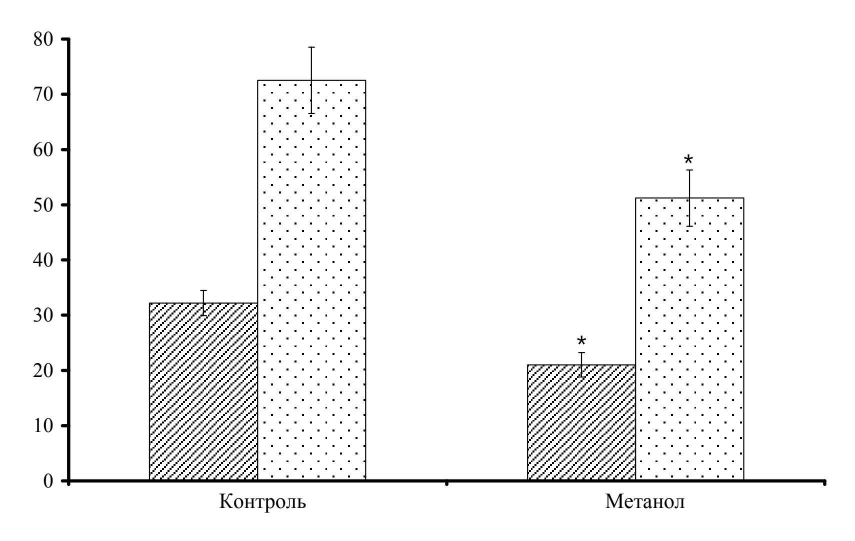


Рис. 7.3. Влияние острого отравления метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) на формирование

гиперчувствительности замедленного типа у крыс по приросту массы задней стопы, % (M±m;n=6-7).

Модели ГЗТ: ▨ – реакция без переноса клеток ; ⬚ - реакция с переносом спленоцитов; * – различие с контролем достоверно – p<0,05.

При переносе спленоцитов крыс-доноров крысам-реципиентам реакция ГЗТ отражает формирование вторичного клеточного иммунного ответа, так как после введения этих клеток крысы-реципиенты за 4 сут до введения разрешающей дозы антигена (ЭБ), получали его путем внутрибрюшинной иммунизации. В этой реакции основную роль играют Th1-лимфоциты спленоцитов доноров после действия на них метанола.

Изменения формирования ГЗТ, выявленные нами в различных моделях, позволяют заключить, что метанол вызывает супрессию Th1-лимфоцитов как в первичном, так и во вторичном клеточном иммунном ответе. Учитывая, что Th1-лимфоциты обеспечивают реализацию реакции ГЗТ путем активации макрофагов [Хаитов Р.М и соавт., 2000; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Kimber I., 1996], можно полагать, что метанол снижает функцию и этих клеток.

Нами показано, что при действии метанола в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ на АЗКЦ селезенки крыс при иммунизации ЭБ одновременно с интоксикацией происходило статистически значимое уменьшение активности данного параметра в 1,53 раза (p<0,05) через 5 сут после иммунизации (рис. 7.4). При введении метанола через 3 сут после иммунизации АЗКЦ снижалась в 2,44 раза (p<0,05).

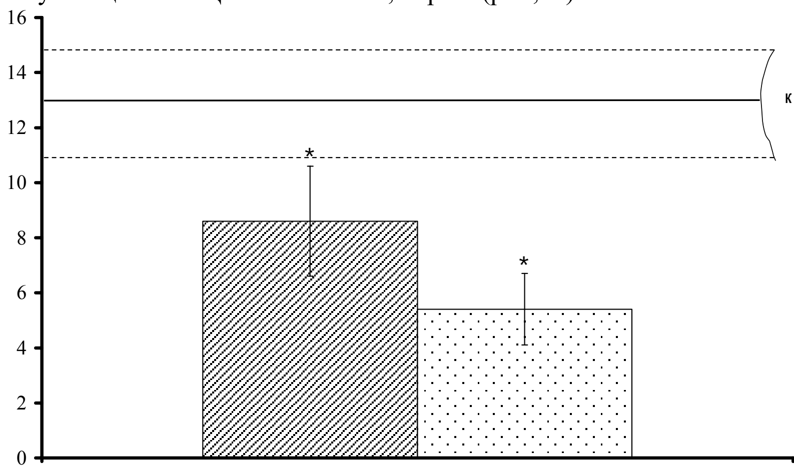


Рис. 7.4. Влияние острого отравления метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) в индуктивной и продуктивной фазах иммуногенеза на антителозависимую клеточную цитотоксичность спленоцитов крыс через 5 сут , % (M±m;n=7-9).

Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут: ▨ - 0; ⬚ - 3;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Наряду с описанными в предыдущих разделах общими механизмами иммунотоксичности метанола, он, по-видимому, способен уменьшать АЗКЦ вследствие нарушения электролитного обмена клетки (перекисное окисление липидов мембран К-клеток, нарушение их проницаемости), приводящего к изменению соотношения цАМФ/цГМФ [Trinchievi G., de Marchi M., 1976] .

Супрессия АЗКЦ в индуктивный и продуктивный период иммуногенеза свидетельствует об увеличение эффекта редукции параметра при введении метанола в продуктивный период формирования иммунного ответа.

Изучение влияния на ЕКК (естественную цитотоксичность – ЕЦ) метанола показало (рис. 7.5), что происходило статистически значимое уменьшение их активности через 1, 3 и 6 сут соответственно в 1,96; 1,72 и 1,38 раза ($p<0,05$). Через 9 сут исследованный показатель практически не отличался от контрольного уровня.

Снижение активности ЕКК под влиянием метанола может быть связано с эффектами кортикостероидов и катехоламинов вследствие активации спиртом гипоталамо-гипофозарно-адреналовой и симпатико-адреналовой систем и увеличения концентрации в крови кортикостероидов и катехоламинов [Тиунов Л.А., 1990; Rey A. et al., 1984; Madden K. S., Livnat S., 1991; Claman H.N., 1993; Stephen B. et al., 2003].

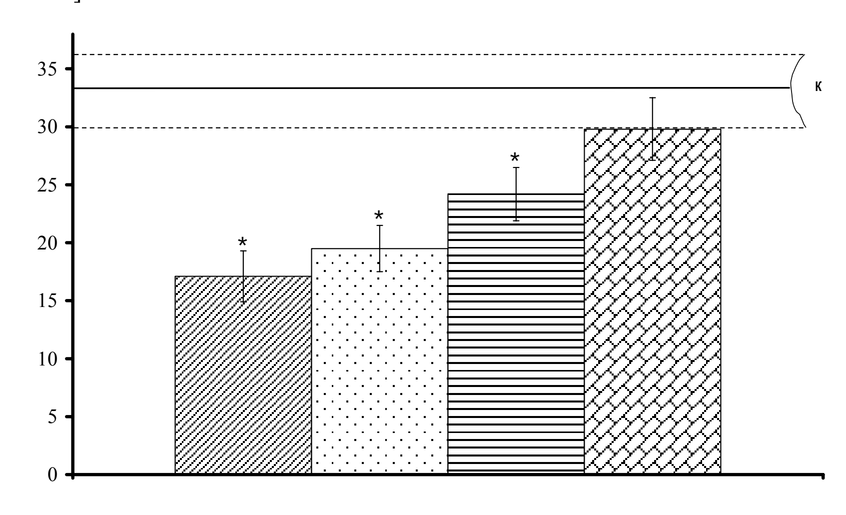


Рис. 7.5. Влияние острого отравления метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) на активность

естественных клеток-киллеров крыс, ЕЦ, % (M±m;n=7-10).
Время после интоксикации, сут: ▨ - 1; ☐ - 3; ⊟ - 6; ▨ - 9;
* – различие с контролем достоверно – p<0,05.

По-видимому, метанол и его метаболиты способны снижать активность ЕКК вследствие поражения механизмов порообразования перфорином и выделения в клетки мишени гранзимов (или снижением их синтеза) [Ройт А. И соавт., 2000; Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984], а также индукцией апоптоза ЕКК [Хаитов Р. М. и соавт., 2002; Kimber I., More M., 1985; Durant S., 1986].

При изучении действия метанола и его метаболитов формальдегида и формиата в концентрациях, составляющих 10; 100 и 500 мМ, на активность ЕКК белых крыс in vitro установлено (рис. 7.6), что данные концентрации спирта снижают исследованный показатель соответственно в 1,58; 2,18; 3,19 (p<0,05) раза.

Необходимо заметить, что в отличие от воздействия метанола на ЕКК in vivo его эффект in vitro обусловлен действием преимущественно неметаболизированной молекулы яда, так в течение 1 ч инкубации на клетки действует молекула, не подвергшаяся биотрансформации. Метаболиты метанола формальдегид и формиат вызывали прямо связанную с концентрацией редукцию активности ЕКК, при этом иммунотоксичность формиата в отношении ЕКК превышала иммунотоксичность формальдегида.

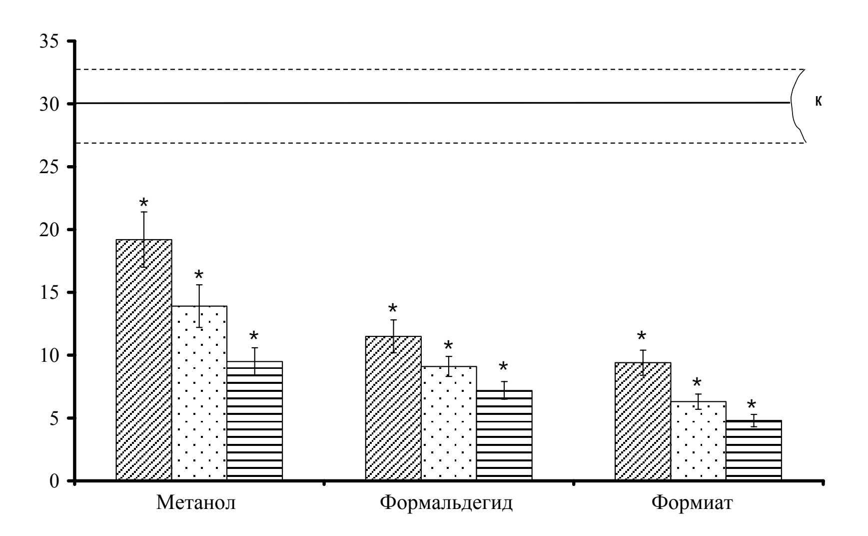


Рис. 7.6. Влияние метанола и его метаболитов на активность ЕКК у крыс in vitro (%) при инкубации спленоцитов с токсикантами в течение 1 ч (M±m;n=7-10). Концентрация, мМ: ▨ - 10; ⬚ - 100; ▤ - 500;
* – различие с контролем достоверно – p<0,05.

Так, при концентрации 10 мМ формальдегида и формиата активность ЕКК снижалась соответственно в 2,63; и 3,22 раза (p<0,05), при концентрации 100 мМ - в 3,33 и 4,81 раза (p<0,05), а при концентрации 500 мМ - в 4,21 и 6,31 раза (p<0,05) соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют, что механизм супрессии активности ЕКК in vivo под влиянием метанола обусловлен преимущественно взаимодействием с ферментными системами ЕКК высокотоксичных продуктов биотрансформации метанола – формальдегида и формиата (муравьиной кислоты), так как in vitro эффекты метаболитов метанола существенно превышают иммунотоксичность его неметаболизированной молекулы. Так, в среднем метаболиты метанола вызывают снижение активности ЕКК по сравнению с контролем в 4,09 раза, а неметаболизированная молекула спирта – в 2,32 раза.

Как уже упоминалось, метаболиты метанола могут действовать на сульфгидрильные и аминогруппы энзимов ЕКК, а также ингибировать тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование этих клеток и Т-хелперов [Ройт А и соавт., 2000; Parry M. F., Wallach M. D., 1974; Iokobsen D., 1984; Gabon P.A., 1986]. In vivo это может приводить к снижению активации ЕКК вследствие редукции синтеза ИЛ-2 Th0-лимфоцитами и γ-интерферона Th1-клетками [Сухих Г.Т. и соавт., 1984; Ройт А и соавт., 2000, Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Таким образом, in vitro редуцирующее действие метанола на активность ЕКК прямо зависит от концентрации, а иммунотоксичность спирта обусловлена преимущественно эффектами его метаболитов. Метаболит метанола формиат вызывает снижение активности ЕКК в большей степени, чем формальдегид.

Нами установлено [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Серов В.В. и др., 2006] (табл. 7.4), что под влиянием метанола (спирт вводился в дозе 1,0 DL_{50} белым крысам на 3 сут после введения им эритроцитов барана в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток) происходило снижение гуморального иммунного ответа через 4 сут после иммунизации к тимусзависимому антигену (по числу АОК в селезенке), характеризующему синтез В-клетками IgM и функцию Th1-лимфоцитов, по сравнению с контрольным уровнем в 1,91 раза

($p<0,05$).

Т а б л и ц а 7.4

Влияние метанола на показатели системы иммунитета крыс после острой интоксикации метанолом в дозе 1,0 DL_{50} (M+m, n =7-13)

Серии опытов	АОК к ЭБ (IgM), 10^3	АОК к ЭБ (IgG), 10^3	АОК к Vi-Ag, (IgM), 10^3	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	40,2±3,8	17,0±1,6	27,7 ± 2,5	33,5±3,4	35,1±2,8
Метанол	21,1±2,0*	6,9±1,1*	13,5±1,9*	16,0±2,0*	21,2±2,2*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Через 7 сут после иммунизации отмечалось уменьшение продукции IgG (по числу АОК в селезенке) в 2,51 раза ($p<0,05$), свидетельствующее о супрессии преимущественно функции Th2-лимфоцитов, а также В-клеток. При отравлении метанолом отмечалась существенная редукция активности ЕКК и реакции ГЗТ соответственно в 2,09 раза ($p<0,05$) и в 1,66 раза ($p<0,05$).

Согласно данным литературы [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993], число АОК к ЭБ через 4 сут после иммунизации характеризует синтез IgM В-лимфоцитами и функцию Th1-клеток. Активность ЕКК и формирование ГЗТ также свидетельствует о способности Th1-лимфоцитов влиять на данные реакции, а число АОК к ЭБ в реакции непрямого локального гемолиза в геле через 7 сут после иммунизации отражает синтез IgG и функцию Th2-лимфоцитов [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993 Smialowicz R. J. et al., 1992]. Показатели, характеризующие различные иммунные реакции и связанную с ними функцию Th1- и Th2-лимфоцитов, при действии метанола в среднем снижались соответственно в 1,90 и 2,51 раза. Это свидетельствует о том, что метанол в существенно большей степени поражает функцию Th2-лимфоцитов или связанную с ними продукцию В-клетками IgG по сравнению действием яда на Th1-лимфоциты и/или на В-лимфоциты, синтезирующие IgM, а также на ЕКК.

Исследование действия метанола на тимуснезависимое антителообразование (число АОК к Vi-Ag), характеризующее функцию В-клеток, свидетельствует о снижении данного показателя под влиянием спирта по сравнению с контролем в 2,46 раза ($p<0,05$).

Более выраженный супрессирующий эффект метанола в отношении иммунной реакции, сопряженной с функцией Th2-

лимфоцитов, вероятно, обусловлен нарушением их способности активировать функцию В-клеток. Уменьшение тимуснезависимого антителообразования (редукция синтеза В-лимфоцитами IgM) связано со снижением в них фолиевой кислоты в результате ее усиленного потребления при метаболизме метанола [Johlin F.C. et al., 1987]. Одной из причин супрессии активности ЕКК под влиянием метанола может являться снижение продукции ИФН-γ и ИЛ-2 соответственно Th1- и Th0-клетками [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Таким образом, острое отравление метанолом в дозе 1,0 DL_{50} вызывает редукцию иммунных реакций, обусловленных активностью Th1-лимфоцитов, в меньшей степени по сравнению с иммунным ответом, связанным с функцией Th2-клеток.

Активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы при острой интоксикации ксенобиотиками вызывает увеличение в крови кортикостероидов. Существуют основания полагать, что глюкокортикоиды при различных отравлениях способны вызывать иммуносупрессивные эффекты [Лазарева Д.Н., Алехин Е.Н., 1985; Корнева Е.А., 1990; Забродский П.Ф., 1998; 2002; Claman H.N., 1983; Rey A. et al., 1984; Tiefenbach B. et al., 1985; Dhabhar F. S. et al., 1996; Stephen B. et al., 2003].

Процессы перекисного окисления липидов до сих пор привлекают внимание многих исследователей и интенсивно изучаются при отравлениях ксенобиотиками [Абдрашидова Н.Ф., Романов Ю.А., 2001; Бурмистров С.О. и соавт., 2002] и самых различных патологических состояниях [Лукьянова Л.Д. и соавт., 2001; Зарубина И.В., Миронова О.П., 2002; Плужников Н.Н. и соавт., 2003а, 2003в]. Существуют доказательства тесной взаимосвязи ПОЛ с формированием постинтоксикационного иммунодефицитного состояния [Забродский П.Ф., 1998; 2002].

При определении концентрации кортикостерона (КС) в плазме крови крыс при остром отравлении метанолом установлено (рис. 7.7) существенное увеличение его концентрации через 2 и 6 ч. При этом максимальное увеличение концентрации гормона отмечалось через 2 ч.

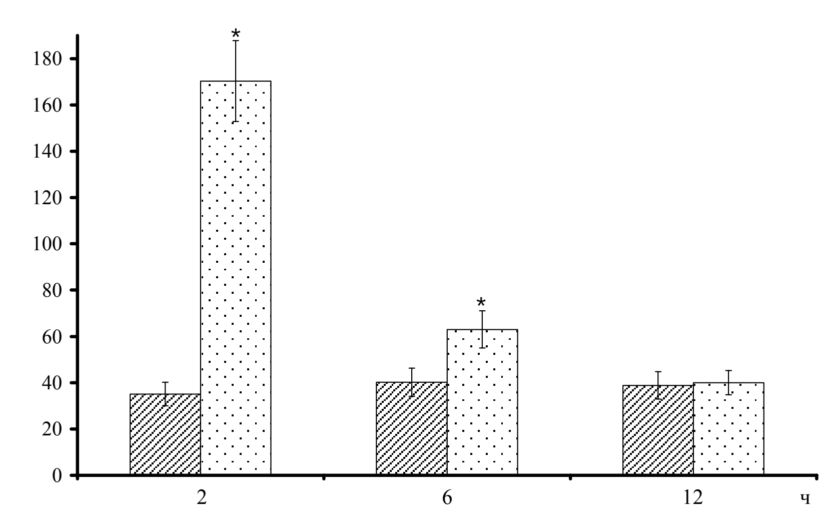


Рис. 7.7. Концентрация кортикостерона в плазме крови крыс при остром отравлении метанолом в дозе 0,75 $ЛД_{50}$, нг/мл (M±m, n = 8-11):
▨ – контроль; ⚀ – метанол; *– различие с контролем достоверно – p<0,05.

Через 12 ч концентрация кортикостерона при действии метанола существенно не отличалась от контрольного значения.

Наши эксперименты позволили установить (табл. 7.5), что под влиянием двухкратного введения кортикостерона в дозах 4,0 и 1,5 мг/кг соответственно с интервалом 2 ч основные показатели системы иммунитета существенно снижаются. Так, супрессия тимусзависимого, тимуснезависимого антителообразования (число АОК к ЭБ и Vi-Ag соответственно), Т-звена иммунитета (реакция ГЗТ), активности ЕКК (ЕЦ) и АЗКЦ под влиянием экзогенного КС составила соответственно 17,0; 19,1; 23,0; 31,1 и 24,1% (p<0,05).

Таблица 7.5

Влияние кортикостерона (дозах 4,0 и 1,5 мг/кг соответственно с интервалом 2 ч) на показатели системы иммунитета у крыс (M±m, n = 5-7)

Показатели	Контроль	Действие КС
АОК к ЭБ, 10^3	34,1±3,0	28,3±2,1**
АОК к Vi-Ag, 10^3	28,3±2,4	22,9±2,2**
Реакция ГЗТ, %	35,2±2,7	27,1±2,3**

ЕЦ, %	30,5+3,1	21,0+1,6**
АЗКЦ, %	12,0+1,3	9,1+0,7*

Примечание: ЕЦ и АЗКЦ определяли соответственно через 1 и 5 сут; в *; ** – различие с контролем достоверно - р<0,05 (*; ** – для расчета достоверности различий использовали соответственно t – критерий Стьюдента и непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни).

Следует отметить, что введение кортикостерона в указанных дозах вызывало увеличение данного гормона в крови через 1 ч до 180,5+9,8 нг/мл (контроль составлял – 30,3+5,0 нг/мл), а через 3 ч – до 70,9+6,5 нг/мл (контроль – 44,7+4,3 нг/мл). Данные концентрации в целом соответствовали содержанию кортикостерона в плазме крови после острой интоксикации метанолом в дозе 0,75 $ЛД_{50.}$

При вычислении коэффициента корреляции между концентрацией кортикостерона в крови и АОК к ЭБ при остром отравлении крыс метанолом установлено, что он составляет -0,708 (р<0,05). Коэффициент корреляции при острым отравлении метанолом между концентрацией кортикостерона в крови и реакцией ГЗТ составляет -0,712 (р<0,05).

Проведенные опыты доказывают существенную роль кортикостерона в супрессии основных иммунных реакций при остром отравлении метанолом.

Данные, приведенные в предыдущих разделах, показали, что иммунные реакции под влиянием метанола снижаются в большей степени, чем в опытах при действии кортикостерона в концентрациях адекватных действию токсиканта. Так, максимальное снижение АОК к ЭБ и Vi-Ag (введение метанола в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ одновременно с иммунизацией) составило соответственно 34,6 и 35,9%, а – реакции ГЗТ, ЕЦ (через 1 сут) АЗКЦ, соответственно – 33,0; 53,3 и 48,9%.

Следовательно, редукция гуморальных и клеточных показателей системы иммунитета при интоксикации метанолом обусловлена не только эффектом кортикостерона, но и действием токсиканта и его метаболитов на лимфоциты. Так, редукция тимусзависимого, тимуснезависимого антителообразования, реакции ГЗТ, активности ЕКК и АЗКЦ и при остром действии метанола (без учета эффекта кортикостерона) составляет соответственно 49,1; 53,2; 69,7; 58,3 и 50,9% от общего супрессирующего эффекта (принятого за 100%). Данный вывод подтверждается данными, полученными в опытах ex vivo и in vitro.

Нами показано [Забродский П.Ф., Серов В.В., 2006], что действие острого отравления метанолом вызывало инициацию ПОЛ (табл. 7.6).

Это характеризовалось уменьшением под влиянием яда активности каталазы и пероксидазы, характеризующей антиоксидантную систему, соответственно в 1,60 и 1,56 раза ($p<0,05$). Основной продукт ПОЛ малоновый диальдегид (МДА) при остром отравлении метанолом существенно повышался в 1,36 раза ($p<0,05$). Изменения показателей ПОЛ в крови отражают процесс свободнорадикального окисления липидов, как всех клеток организма, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов [Арчаков А.И., 1993]. Активация ПОЛ под влиянием метанола может являться одним из механизмов, приводящих к формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния.

Таблица 7.6

Влияние острой интоксикации метанолом (0,75 $ЛД_{50}$) на показатели перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (M+m, n = 9-13)

Серии опытов	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	243,1+27,5	30,6+3,8	8,13+0,34
Метанол	152,1+ 24,1*	19,0+ 2,2*	10,56+0,48*

Примечание: в каждой серии опытов использовалось 9-13 животных; * - $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Повреждающий эффект ПОЛ в отношении иммунокомпетентных клеток при действии метанола может быть обусловлен действием продуктов распада гидроперекисей фосфолипидов, которые взаимодействуют со свободными аминогруппами мембранных белков иммуноцитов, образуя межмолекулярные сшивки и инактивируя эти белки. Кроме того, активация ПОЛ вызывает окисление сульфгидрильных групп иммуноцитов до сульфонов. Это приводит к инактивации мембраносвязанных ферментов и увеличению проницаемости мембран иммунокомпетентных клеток [Арчаков А.И., 1993; Геннис Р., 1997; Забродский П.Ф., 1998; 2002].

Инициация ПОЛ метанолом, возможно, реализуется в результате активации ПОЛ метаболитами токсиканта формальдегидом и формиатом (и неметаболизированной молекулы спирта) в сочетании с высокой концентрацией кортикостероидов, обусловленной эффектом стресс-реакции на действие токсиканта.

При вычислении коэффициентов корреляции между числом АОК к ЭБ, реакцией ГЗТ при остром отравлении метанолом и содержанием

каталазы в крови установлено, что они составляли соответственно 0,715 ($p<0,05$) и 0,742 ($p<0,05$) [n=9]. Коэффициенты корреляции между содержанием МДА в крови и показателями иммунного статуса при действии метанола составляли от -0,707 до -0,781 [n=9]. Значения r между параметрами были статистически значимы.

Таким образом, острая интоксикация метанолом в условиях эксперимента на животных в дозах 0,25; 0,50; 0,75 $ЛД_{50}$ вызывает прямо связанную с дозой супрессию основных гуморальных и клеточных иммунных реакций. Наиболее чувствительными к действию метанола (0,75 $ЛД_{50}$) являлись В-клетки. Основными механизмами нарушения физиологической регуляции иммуногенеза и функции Т- и В-звена иммунитета метанолом, приводящими к постинтоксикационному иммунодефицитному состоянию, являются: снижение иммуноцитов в органах системы иммунитета, нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов, иммуносупрессивный эффект кортикостероидов, инициация ПОЛ.

7.2.2. Медикаментозная коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации метанолом

В экспериментах на крысах (табл. 7.7) после острой интоксикации метанолом в дозе 1,0 DL_{50} применяли антидот метанола этанол –конкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы. Этанол вводили внутрибрюшинно в виде 15% водного раствора в дозе 3 мл/кг 2 раза в сутки; первую дозу этанола животные получали через 10 мин после введения метанола. Установлено [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Серов В.В., 2006], что этанол при острой интоксикации метанолом вызывал снижение гуморального иммунного ответа к тимусзависимому (ЭБ) и к тимуснезависимому (Vi-Ag) антигенам в равной степени. Так, метанол снижал число АОК к ЭБ и Vi-Ag соответственно в 2,02 и 2,07 раза ($p<0,05$), а применение после отравления метанолом этанола приводило к супресии данных параметров в 2,70 и 2,85 раза ($p<0,05$) соответственно.

Т а б л и ц а 7.7

Влияние этанола на гуморальные и клеточные имунные реакции крыс при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} ($M \pm m$, n=7-9)

Показатель	Контроль	Метанол	Метанол + этанол	Уровень достоверност и - $p<0,05$

	1	2	3	4
АОК к ЭБ, · 10^3	37,8±3,3	18,7±1,8	14,0±1,2	1-2, 1-3, 2-3
АОК к Vi-Ag,· 10^3	25,4 ± 2,1	12,1±1,6	8,9±1,0	1-2, 1-3
ГЗТ, %	37,5 ± 2,6	23,0 ± 2,4	16,1 ± 1,7	1-2, 1-3, 2-3
ЕЦ,%	30,8±3,1	13,2±1,9	7,2±0,9	1-2, 1-3, 2-3
АЗКЦ, %	13,4±1,8	7,8±1,5	4,7±0,8	1-2, 1-3

Применение этанола усиливало супрессию реакции ГЗТ под влиянием острой интоксикации метанолом. Так, метанол снижал показатель в 1,63 раза ($p<0,05$), а комбинированное действие спиртов приводило к редукции формирования ГЗТ в 2,33 раза ($p<0,05$). Аналогичные изменения отмечались при изолированном действии метанола и его комбинации с этанолом на активность ЕКК и АЗКЦ.

Выявленное усиление редукции показателей системы иммунитета при отравлении метанолом его антидотом этанолом обусловлено аддитивным эффектом двух спиртов на мембрану лимфоцита. При этом реализуются эффекты метанола и этанола, обусловленные выявленной нами инициацией ПОЛ, активацией гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и эффектом кортикостероидов.

Несмотря на снижение этанолом процессов «летального синтеза» метанола с образованием формальдегида и муравьиной кислоты [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004], полностью не исключена биотрансформация метанола и действие его метаболитов на сульфгидрильные и аминогруппы ферментов лимфоцитов, а также ингибирование тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования иммуноцитов [Iokobsen D., 1984; Gabon P.A. et al., 1986; Tephly T.R., 1991]. Усиление иммунотоксичности метанола этанолом вполне объяснимо, так как известно, что этанол уменьшает пролиферацию Т-лимфоцитов [Roselle G.A., Mendenhall C.L., 1982], функцию перитонеальных макрофагов [Morland B., Morland I., 1982], АЗКЦ Stasey N.H., 1975], продукцию антител классов IgM и IgG_1 [Carson E.J., Pruett S.B. , 1996]. Установлено [Oschshorn-Adelson M. et al., 1994], что 4-часовая инкубация лимфоцитов человека в присутствии этанола при концентрации, равной или более 80 мг/дл, оказывала дозозависимый эффект, подавляя естественную киллерную активность. Предполагается, что в основе снижения резистентности у больных алкоголизмом к вирусам и опухолям лежит прямое воздействие этанола на ЕКК [Oschshorn-Adelson M. et al., 1994].

Выявленное усиление иммунотоксичности метанола этанолом предполагает обязательное включение в схему лечения острых

интоксикаций иммуностимуляторов, повышающих активность ЕКК, АЗКЦ, а также гуморальные и клеточные иммунные реакции.

Таким образом, этанол при использовании его в качестве антидота при остром отравлении метанолом усиливает вызванную им редукцию тимусзависимого и тимуснезависимого гуморального иммунного ответа, активность ЕКК, функцию К-клеток в реакции АЗКЦ, а также формирование ГЗТ.

При исследовании влияния антидота метанола 4-метилпиразола (безконкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы) при острой интоксикации метанолом в дозе 1,0 DL_{50} на показатели системы иммунитета установлено (табл. 7.8), что 4-метилпиразол снижал супрессию гуморального иммунного ответа к тимусзависимому (ЭБ) и к тимуснезависимому (Vi-Ag) антигенам, уменьшал редукцию АЗКЦ и реакции ГЗТ, обусловленные иммунотоксическим эффектом метанола. Так, метанол приводил к снижению АОК к ЭБ и Vi-Ag, АЗКЦ и формирование ГЗТ соответственно в 1,86; 1,52; 1,78 и 1,59 раза ($p<0,05$), а после применения 4-метилпиразола данные показатели оставались ниже, чем в контроле в 1,40 ($p<0,05$); 1,25; 1,37 ($p<0,05$) и 1,26 раза соответственно. При этом только тимузависимая гуморальная иммунная реакция и АЗКЦ достоверно отличались от контрольного уровня.

Т а б л и ц а 7.8

Влияние и 4-метилпиразола на гуморальные и клеточные иммунные реакции при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} ($M \pm m$, n=7-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	31,2±3,1	24,7±2,3	12,5±1,2	34,1±3,0
Метанол	16,8±2,3*	16,2±1,8*	7,0±0,8*	22,0±2,3*
Метанол + 4-МП	22,3±2,0*	19,8±1,7	9,1±0,9*	27,0±2,5
4-МП	27,0±2,9	21,2±2,0	10,5±1,1	30,1±2,5

Примечание: 4 –МП - 4-метилпиразол; * - $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Применение только 4-метилпиразола практически не влияло на параметры иммунного ответа (отмечалась их несущественная редукция). Полученные данные позволяют полагать, что при комбинированном действии метанола и 4-метилпиразала отмечается менее выраженное иммунотоксическое воздействие, чем при острой интоксикации метанолом. Это, вероятно, связано с практически полным отсутствием редуцирующего действия высокотоксичных

метаболитов метанола формальдегида и формиата. Известно, что при действии антидота метанола 4-метилпиразола при отравлении спиртом блокируется «летальный синтез», то есть биотрансформация метанола до более токсичных продуктов формальдегида и формиата не происходит.

Несущественный иммуносупрессивный эффект 4-метилпиразола, вероятно, обусловлен ингибированием не только алкольдегидрогеназы, но и других энзимов иммунокомпетентных клеток, определяющих их функцию.

Выявленное лишь частичное снижение иммунотоксичности метанола 4-метилпиразолом предполагает обязательное включение в схему лечения острых интоксикаций метанолом иммуностимуляторов.

Таким образом, антидот метанола 4-метилпиразол (безконкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы) при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} снижает постинтоксикационную супрессию гуморальных и клеточных иммунных реакций. При этом тимусзависимая гуморальная иммунная реакция и АЗКЦ оставались существенно ниже контрольных значений.

Одним из способов терапии отравлений ксенобиотиками, в частности, фосфорорганическими соединениями, является использование индукции цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ барбитуратами, зиксорином и другими средствами [Каган Ю.С. и соавт., 1983; Забродский П.Ф., Линючев М.Н, 1993;]. Монооксигеназная система – МС (система цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ) – тесно связана с иммунологическими механизмами в системе поддержания химического гомеостаза [Саприн А.Н. и соавт., 1982; Забродский П.Ф., 1998]. Ферменты МС содержатся в основном в печени; кроме того, в меньших количествах они находится и в других тканях (лимфоидных органах, почках, коже). Барбитураты и другие соединения, индуцируя энзимную активность МС, увеличивают ее способность осуществлять биотрансформацию ксенобиотиков в десятки раз [Козлов В.А и соавт, 1991]. В лимфоидной ткани животных и человека идентифицированы следующие формы цитохрома Р-450: Р-450РВ-1, Р-450РВ-4, Р-450МС-1α, Р-450МС-1β, а также бензпиренгидроксилаза, этоксирезоруфин-О-деэтилаза, аминопирин-н-деметилаза [Козлов В.А и соавт., 1991].

Данные литературы свидетельствуют о том, что под влиянием индукторов МС токсичные химические вещества могут оказывать как иммуносупрессивное, так и иммуностимулирующее действие

[Саприн А.Н. и соавт., 1982; Забродский П.Ф., 1998]. Возможно, индукция ксенобиотиками системы цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ может, как усиливать реализацию иммунотоксических эффектов токсикантов, образующих высокотоксичные продукты биотрансформации («летальный синтез»), так и снижать ее при детоксикации МС большинства химических соединений.

Известно, что метанол метаболизируется помимо каталазы, алкогольдегидрогеназы также и цитохром Р-450-зависимыми монооксигеназами [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004]. Нами исследовалось влияние индуктора Р-450-зависимых монооксигеназ фенобарбитала [Каган Ю.С. и соавт., 1983] на иммунотоксичность метанола. В течение трех суток до острой интоксикации метанолом дозе 1,0 $ЛД_{50}$ крысам внутрижелудочно вводили фенобарбитал в дозах 50 мг/кг.

Применение фенобарбитала приводило к (табл.7.9) несущественному увеличению гуморального иммунного ответа к тимусзависимому и тимуснезависимому антигенам.

Т а б л и ц а 7.9

Влияние острого отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50} на показатели системы иммунитета у крыс после применения фенобарбитала (М±m, n=7-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	31,4 ± 3,2	23,4±2,3	28,0±2,1	12,5±1,3	32,3±2,2
ФБ	38,2 ± 3,3	27,0±2,3	34,0±2,4	15,9±1,6	37,9±2,6
М	16,2±2,1*	14,7±1,7*	12,3±1,8*	8,2±1,1*	17,2±1,6*
ФБ+М	10,5±1,3**	9,2±1,4**	10,0±1,4*	5,1±0,7**	11,0±1,2**

Примечание: ФБ – фенобарбитал; М – метанол; *р<0,05 по сравнению с контролем; **р<0,05 по сравнению с контролем и показателем после интоксикации метанолом без применения фенобарбитала.

АЗКЦ и реакция ГЗТ возрастала соответственно в 1,26; 1,20; 1,25 и 1,17 раза (р>0,05). Под влиянием фенобарбитала активность ЕКК повышалась в 1,24 раза (р<0,05).

Острая интоксикация метанолом вызывала снижение тимусзависимой, тимуснезависимой гуморальной иммунной реакции, активности ЕКК, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,94; 1,59; 2,28; 1,52 и 1,88 раза (р<0,05).

При остром отравлении метанолом после трехдневного введения фенобарбитала отмечалась статистически значимая редукция

показателей системы иммунитета по сравнению с контролем и параметрами иммунного статуса только после интоксикации метанолом без применения индукторов Р-450-зависимых монооксигеназ фенобарбитала ($p<0,05$). При этом метанол, метаболизирующийся до более токсичных соединений формальдегида и формиата [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004], после применения фенобарбитала вызывал супрессию антителопродукции к тимусзависимому и тимуснезависимому антигенам, активности ЕКК, уменьшение АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 2,99; 2,54; 2,80; 2,48 и 2,93 раза ($p<0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что редукция параметров иммунного статуса под влиянием ферментиндуцирующего средства (индуктора Р-450-зависимых монооксигеназ) фенобарбитала после острой интоксикации метанолом, метаболизирующегося до более токсичных соединений (феномен «летального синтеза»), более выражена, чем при изолированном действии метанола.

Как уже указывалось (и доказано нами в предыдущем разделе), индуцируя систему цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ, многие ксенобиотики (в частности, барбитураты) способны усиливать реализацию иммунотоксических эффектов токсичных химических веществ, образующих высокотоксичные продукты биотрансформации («летальный синтез») [Голиков С.Н. и соавт., 1986; Козлов В.А., и соавт., 1991]. Однако влияние ингибиторов цитохрома Р-450 на иммунотоксические свойства токсикантов, метаболизирующихся в организме монооксигеназной системой до высокотоксичных соединений, в настоящее время не исследовано [Goudie, A.J. et al., 1975; Benz, F.W. et al., 2005]. К числу обратимых и необратимых ингибиторов цитохрома Р-450 относятся многочисленные соединения различной химической природы (эфиры, спирты, фенолы, производные бензола, гидразины, SKF-525A, полигалогенизированные алканы, ингибиторы белкового синтеза и др.) [Голиков С.Н. и соавт., 1986; Benz, F.W. et al., 2005].

Существуют основания предполагать, что обратимый ингибитор цитохрома Р-450 2-диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетат (SKF-525A), при последующем действии на организм метанола, образующего высокотоксичные метаболиты различными ферментными системами, и, в частности, монооксигеназной системой может сопровождаться снижением его иммунотоксических эффектов.

После острого отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50} отмечалась (табл. 7.10) существенная редукция гуморального иммунного ответа к

тимусзависимому и тимуснезависимомому антигенам, активности ЕКК, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,94; 1,59; 2,28; 1,52 и 1,88 раза (р<0,05).

Т а б л и ц а 7.10

Влияние SKF-525A при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} на показатели системы иммунитета у крыс (М±m, n=7-11)

Серии опытов		АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК К Vi-Ag, $\cdot 10^3$	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	1	31,4 ± 3,2	23,4±2,3	28,0±2,1	12,5±1,3	32,3±2,2
SKF-525A	2	27,1 ± 3,0	20,3±2,0	25,3±2,3	10,1±1,4	29,2±2,8
Метанол	3	16,2±2,1	14,7±1,7	12,3±1,8	8,2±1,1	17,2±1,6
SKF-525A + метанол	4	22,0±1,2	19,2±1,3	17,2±1,4	11,4±1,0	21,9±1,3
Различия – р<0,05		1-3, 1-4, 3-4	1-3, 3-4	1-3, 1-4, 3-4	1-3, 3-4	1-3, 1-4, 3-4

После использования SKF-525A внутриперитонеально в дозе 50 мг/кг за 1 сут до введения метанола иммуносупрессивные эффекты спирта статистически значимо уменьшались (р<0,05). Так, острое отравление метанолом после введения SKF-525A приводило к увеличению тимусзависимую и тимуснезависимую гуморальную иммунную реакцию, ЕЦ, АЗКЦ и формирование ГЗТ по сравнению с показателями после действия токсиканта соответственно в 1,36; 1,31; 1,40; 1,24 и 1,27 раза (р<0,05). При этом все показатели оставались существенно ниже, чем в контроле (р<0,05), за исключением тимуснезависимой иммунной реакции и АЗКЦ. Препарат SKF-525A на исследованные показатели системы иммунитета существенного влияния не оказывал.

После острой интоксикации метанолом через 1 сут в селезенке определялись его метаболиты формальдегид и формиат. Использование SKF-525A до введения метанола приводило к снижению концентрации формиата в 1,56 раза (р<0,05), при этом содержание формальдегида в органе не зарегистрировано (табл. 7.11). Это свидетельствует о том, что редукция иммунотоксичности метанола, связанная с действием SKF-525A, обусловлена снижением его метаболизма Р-450-зависимыми монооксигеназами. Формальдегид не определялся в селезенке, вероятно, вследствие его быстрой биотрансформации НАД-зависимой формальдегиддегидрогеназой (К.Ф.1.2.1.1.) и альдегиддегидрогеназой (К.Ф.1.2.1.3.), составляющей у

приматов 1,5 мин [McMartin K.E et al., 1980].

Таблица 7.11

Влияние метанола и SKF-525A после острого отравления метанолом через 1 сут на содержание его метаболитов в селезенке крыс через 1 сут, мг/кг (M±m; n=7-11)

Метаболиты	Серии опытов	
	Метанол	SKF-525A +метанол
Формальдегид	НО	НО
Формиат	0,28±0,03	0,18±0,02

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; НО – не определялся.

Существуют основания считать, что биотрансформация метанола может происходить не только в печени, но и в лимфоцитах. Так, доказано, что витамин А, левамизол, фенобарбитал и другие вещества способны индуцировать цитохром-Р-450 в Т-лимфоцитах, ЕКК и повышать их активность [Саприн А.Н. и соавт., 1982].

Ингибирование SKF-525A монооксигеназной системы печени и лимфоидной ткани, значительно снижая биотрансформацию метанола, уменьшает образование его более токсичных метаболитов. Это сопровождается редукцией иммуносупрессивного эффекта спирта.

Таким образом, использование ингибитора цитохрома Р-450 препарата SKF-525A (диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетата) до острого отравления белых крыс метанолом в дозе 1,0 $ЛД_{50}$, метаболизирующегося в организме до соединений с более высокой токсичностью (феномен «летального синтеза»), вызывает частичную редукцию иммунотоксических свойств метанола вследствие снижения образования более токсичных продуктов его биотрансформации.

Нами установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2006], что использование фолината кальция в дозе 3 мг/кг трехкратно с 12 ч интервалом после отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50} приводило к увеличению гуморального иммунного ответа к тимусзависимому (ЭБ) и тимуснезависимому (Vi-Ag) антигенам, активности ЕКК, АЗКЦ и реакции ГЗТ по сравнению с показателями при интоксикации. Так, фолинат кальция увеличивал число АОК к ЭБ и Vi-Ag, ЕЦ, АЗКЦ и формирование ГЗТ соответственно в 1,74; 1,98; 2,06; 1,24 и 1,68 раза ($p<0,05$) по сравнению параметрами при отравлении метанолом (табл. 7.12). При этом показатели системы иммунитета оставались несущественно меньше контрольных параметров, за исключением

тимуснезависимой антителопродукции, незначительно превышавшей контрольный уровень.

Т а б л и ц а 7.12

Действие фолината кальция на показатели иммунного ответа при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} (M±m; n=7-10)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	31,4 ± 3,2	23,4±2,3	28,0±2,1	12,5±1,3	32,3±2,2
Метанол	16,2±2,1*	14,7±1,7*	12,3±1,8*	8,2±1,1*	17,2±1,6*
ФК	35,1 ± 3,3	27,0±2,5	31,4±2,4	15,5±1,4	36,0±2,7
М+ФК	28,3±2,4	29,1±2,1	25,3±2,3	10,2±1,0	28,9±2,1

Примечание: ФК – фолинат кальция; М – метанол; * - $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Изолированное действие фолината кальция несущественно увеличивало показатели системы иммунитета.

Вероятно более выраженное иммунопротективное (иммуностимулирующее) действие фолината кальция в отношении тимуснезависимого антителообразования, обусловленного функцией В-клеток, объясняется тем обстоятельством, что биотрансформация высокотоксичного метаболита метанола формиата осуществляется основным фолатзависимым путем [Румянцев А.П. и соавт., 1981; Кожемякин Л. А. и соавт., 1991; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004]. Существуют основания считать, что при этом метанол практически полностью потребляет фолиевую кислоту. Как уже указывалось, подобно антиметаболиту этой кислоты иммунодепрессанту метотрексату формиат, по-видимому, снижает ресурсы дигидрофолатредуктазы. В результате реализуются такие же эффекты, как и у метотрексата – уменьшается образование тетрагидрофолиевой кислоты, ингибируется перенос метиловых групп, снижается синтез ДНК преимущественно в В-лимфоцитах, что вызывает супрессию функции преимущественно этих клеток [Ройт А. и соавт., 2000].

Таким образом, фолинат кальция при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} практически полностью восстанавливает антителообразование и клеточные иммунные реакции.

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о том, что для снижения иммунотоксических эффектов метанола могут быть использованы 4-метилпиразол (безконкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы), ингибитор цитохрома Р-450 препарат SKF-525A (диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетат), а также фолинат кальция. Антидот метанола этанол (безконкурентный ингибитор

алкогольдегидрогеназы) является препаратом обязательным для использования при оказании медицинской помощи отравленным метанолом [Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Фридман Л.С. и соавт., 1998; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Куценко С.А. и соавт., 2004; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004]. Однако этанол, как показали наши исследования, усиливает иммунотоксические эффекты метанола. Исследованные нами иммунотропные эффекты 4-метилпиразола и препарата SKF-525A (диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетата) при отравлении метанолом представляют в настоящее время только теоретическое значение, так как данные соединения в Российской Федерации для лечения отравлений метанолом не разрешены в связи с недостаточной изученностью их побочных эффектов и противопоказаний.

В связи с вышеизложенным необходимо рассматривать возможность коррекции нарушений физиологической регуляции иммунного гомеостаза после острого отравления метанолом с учетом того, что при лечении отравления метиловым спиртом на систему иммунитета будет оказывать комбинированное действие метанол и этанол.

Вероятно в настоящее время оправдано применение фолината кальция и иммуностимуляторов последнего поколения для восстанавления показателей системы иммунитета, сниженных в результате совместного действия метилового и этилового спирта.

При изучении иммуностимулирующих свойств миелопида и полиоксидония в опытах на крысах после острого отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50} установлено (табл. 7.13), что применение данных иммуностимуляторов приводило к увеличению гуморального иммунного ответа к тимусзависимому (ЭБ) и тимуснезависимому (Vi-Ag) антигенам, активности ЕКК, АЗКЦ и реакции ГЗТ по сравнению с показателями при интоксикации.

Т а б л и ц а 7.13

Действие миелопида и полиоксидония на показатели иммунного ответа при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} (M±m; n=7-10)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	31,4 ± 3,2	23,4±2,3	28,0±2,1	12,5±1,3	32,3±2,2
Метанол	16,2±2,1*	14,7±1,7*	12,3±1,8*	8,2±1,1*	17,2±1,6*

М + МП	27,8 ± 3,0	25,2±2,1	24,0±2,3	10,5±1,1	28,2±2,5
М + ПО	29,4±2,5	22,3±2,3	30,7±2,7	14,0±1,4	33,2±2,6

Примечание: М – метанол; МП – миелопид; ПО – полиоксидоний; * - $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Так, миелопид в дозе 10 мкг/кг при ежедневном однократном введении в течение 4 сут увеличивал число АОК к ЭБ и Vi-Ag, ЕЦ, АЗКЦ и формирование ГЗТ соответственно в 1,72; 1,71; 1,95; 1,28 и 1,64 раза ($p<0,05$) по сравнению с параметрами при отравлении метанолом. При этом показатели системы иммунитета существенно не отличались от контрольных параметров.

Использование полиоксидония в дозе 100 мкг/кг однократно, ежедневно, в течение 4 сут, полностью восстанавливало показатели системы иммунитета после отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50}. Так, иммуностимулятор увеличивал число АОК к ЭБ и Vi-Ag, ЕЦ, АЗКЦ и формирование ГЗТ соответственно в 1,81; 1,52; 2,50; 1,71 и 1,93 раза ($p<0,05$) по сравнению параметрами при отравлении метанолом. В целом эффективность полиоксидония превышала стимулирующий эффект миелопида. Так, в среднем миелопид увеличивал исследованные показатели в 1,68 раза по сравнению с параметрами при интоксикации метанолом, а полиоксидоний – в 1,89 раза.

В настоящее время, как уже указывалось, при лечении острых интоксикаций метанолом в качестве антидота обязательно используется этанол [Саватеев Н.В., 1978; Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; Куценко С.А. и соавт., 2004]. Известно, что этот спирт при с комбинированном применении с метанолом усиливает его иммунодепрессивный эффект [Забродский П.Ф. и соавт., 2001], поэтому представляет интерес исследование эффективности иммуностимуляторов при комбинированном действии метанола и его антидота этанола.

В опытах на белых крысах нами установлено (табл. 7.14), что применение фолината кальция в дозе 3 мг/кг трехкратно с 12 ч интервалом после отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50} в условиях терапии интоксикации этанолом, миелопида в дозе 5 мкг/кг, полиоксидония в дозе 100 мкг/кг частично восстанавливало тимусзависимое и тимуснезависимое антителообразование, активность ЕКК и реакцию ГЗТ. Так, фолинат кальция увеличивал данные показатели соответственно в 1,51 ($p<0,05$), 2,22 ($p<0,05$); 1,49

(p>0,05) и 1,15 раза (p>0,05), миелопид - в 1,79 (p<0,05), 2,45 (p<0,05), 2,43 (p<0,05) и 1,22 раза (p>0,05) соответственно, а полиоксидоний соответственно в 2,12; 2,66; 3,33 и 1,77 раза (p<0,05) по сравнению с показателями при интоксикации.

Т а б л и ц а 7.14

Действие фолината кальция, миелопида, полиоксидония и их комбинаций на показатели иммунного ответа при остром отравлении метанолом в дозе 1,0 DL_{50} в условиях лечения интоксикации этанолом (M±m; n=8-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	36,7 ± 3,2	29,8±2,5	31,6±2,3	34,5±2,5
М + Э	13,1±1,7*	8,3±1,3*	7,0±0,8*	15,0±1,6*
М + Э +ФК	19,8±2,3**	18,4±1,9**	10,4±1,3*	17,2±1,8*
М + Э +МП	23,5±2,4**	20,5±2,1**	17,0±1,6**	18,3±1,7*
М + Э + ПО	28,0 ± 2,9**	22,1±2,4**	23,3±1,7**	26,5±1,9**
М + Э + ФК + МП	35,3±3,0	28,5±2,1	27,3±2,3	30,9±2,2
М + Э +ФК + ПО	38,0±3,2	31,3±2,6	32,4±2,5	35,0±2,6
М + Э +МП + ПО	41,8±3,5	33,2±3,0	35,0±3,1	36,2±2,7

Примечание: М – метанол; Э – этанол; ФК – фолинат кальция; МП – миелопид; ПО – полиоксидоний; в каждой группе использовалось 8-11 крыс; * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с контролем и показателем при отравлении метанолом в условиях применения этанола.

Введение фолината кальция в комбинации с миелопидом, фолината кальция в комбинации с полиоксидонием, миелопида в комбинации с полиоксидонием обеспечивало полное восстановление всех исследованных параметров системы иммунитета.

При тимусзависимом антителообразовании действие миелопида и полиоксидония, вероятно, реализуется путем активации процесса кооперации макрофагов, Т-клеток и В-лимфоцитов, антителопродуцирующих В-клеток, функции Th1-лимфоцитов и Th2-клеток, секретируемых соответственно γ-интерферон, β-фактор некроза опухоли (лимфотоксин), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и ГМ-КСФ [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Kimber I., 1996].

Стимуляция тимуснезависимой антителопродукции осуществляется миелопидом и полиоксидонием, вероятно, путем увеличения секреции ИЛ-1 макрофагами или экспрессии рецепторов к ИЛ-1 на В-клетках, а также активацией процессов пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов [Georgiev V.St., Albright J.E., 1993].

Стимуляция миелопидом и полиоксидонием тимуснезависимого антителообразования при остром отравлении метанолом может быть обусловлена их действием на макрофаги [Хаитов Р.М. и соавт., 2002], в результате которого они продуцируют ИЛ-1, являющийся помимо антигена фактором, участвующим в независимом от тимуса антителообразовании [Gillbert K. M. et al., 1985]. Не исключена также активация иммуностимуляторами тимуснезависимых Т-лимфоцитов (Tγδ), индуцирующих продукцию В-клеток антител к Vi-Ag [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; 2002].

Доказанная нами возможность восстановления миелопидом и полиоксидонием функции Т-, В-систем иммунитета, АЗКЦ, активности ЕКК и реакции ГЗТ дает основания полагать, что механизм их действия может быть связан с неспецифической стимуляцией функций клеток организма, способных к пролиферации. Иммуностимулирующие свойства миелопида и полиоксидония обусловлены помимо активации зрелых лимфоцитов также усилением пролиферации и дифференцировки полипотентных стволовых кроветворных клеток [Хаитов Р. М. и соавт., 2002]. Этот механизм, вероятно, при действии миелопида обеспечивается стимуляцией синтеза энзимов и других белков вследствие активации иммуностимуляторами цАМФ, РНК-полимеразы, синтеза ДНК (аналогично эффекту тимогена) [Чейдо М.А. и соавт., 1990; Белокрылов Г.А. и соавт., 1991, 1999; Базарный В.В. и соавт., 1993]. Полиоксидоний, вероятно, стимулирует ЕКК после интоксикации метанолом вследствие его способности активировать выработку γ-интерферона Th1-лимфоцитами [Базарный В.В., Ястребов Ф.П., 1993]. Этот лимфокин активирует ЕКК и восстанавливает постинтоксикационное нарушение их функции, а также индуцирует экспрессию рецепторов ИЛ-2 на их поверхности [Сухих Г.Т. и соавт., 1984]. Кроме того, миелопид и полиоксидоний, вероятно, усиливают формирование ГЗТ, активируя Th1-клетки памяти и макрофаги [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; 2002].

Таким образом, практически полное восстановление показателей иммунного статуса после острого отравления метанолом в дозе 1,0 DL_{50} достигается применением миелопида и полиоксидония. При интоксикации метанолом в дозе 1,0 DL_{50} в условиях антидотной терапии отравления этанолом введение фолината кальция в комбинации с миелопидом, фолината кальция в комбинации с полиоксидонием, миелопида в комбинации с полиоксидонием обеспечивает полное восстановление всех исследованных параметров

системы иммунитета.

Результаты исследований, изложенные в данном разделе, позволяют заключить, что острая интоксикация метанолом в условиях эксперимента на животных вызывает прямо связанную с дозой супрессию основных гуморальных и клеточных иммунных реакций. Наиболее чувствительными к действию метанола (0,75 $ЛД_{50}$) являлись В-клетки. Основными механизмами нарушения физиологической регуляции иммуногенеза и функции Т- и В-звена иммунитета метанолом, приводящими к постинтоксикационному иммунодефицитному состоянию, являются: снижение иммуноцитов в органах системы иммунитета; нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов; иммуносупрессивный эффект кортикостероидов; инициация ПОЛ. Этанол (конкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы) при использовании его в качестве антидота при остром отравлении метанолом усиливает вызванную им редукцию гуморального и клеточного иммунного ответа. Антидот метанола этанол (конкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы), индуктор Р-450-зависимых монооксигеназ фенобарбитал увеличивает вызванную метанолом редукцию иммунных реакций, а 4-метилпиразол (безконкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы), фолинат кальция, ингибитор цитохрома Р-450 препарат SKF-525A, иммуностимуляторы миелопид и полиоксидоний уменьшает их. При интоксикации метанолом в дозе 1,0 DL_{50} в условиях антидотной терапии отравления этанолом введение фолината кальция в комбинации с миелопидом, фолината кальция в комбинации с полиоксидонием, миелопида в комбинации с полиоксидонием обеспечивает полное восстановление всех исследованных параметров системы иммунитета.

7.3. Этиленгликоль

7.3.1. Токсикологическия и иммунотоксикологическая характеристика этиленгликоля

Этиленгликоль (ЭГ, гликоль, этандиол-1,2) – двухатомный спирт, представляющий собой бесцветную или слабо окрашенную в желтый цвет нелетучую сиропообразную жидкость сладковатого вкуса, без запаха. Удельный вес при 20 ^{0}С составляет 1,100-1,116. ЭГ кипит при температуре +194 ^{0}С. Замерзает – при –12 ^{0}С. Водные растворы ЭГ замерзают при значительно более низких температурах.

Этиленгликоль смешивается в любых соотношениях с водой и спиртом. В качестве компонентов противокоррозийных присадок в состав ЭГ входят динатрийфосфат и декстрин.

Применяется для приготовления охлаждающих низкозамерзающих жидкостей - антифризов и в качестве жидкого диэлектрика. В зависимости от марки антифриза ЭГ составляет 30-60% общего объема. Антифризы обладают низкой температурой замерзания (от минус 40 до минус 60 ^{0}С). Охлаждающие низкозамерзающие жидкости марок 40, 65, 40м (слабомутные нелетучие жидкости, окрашенные в светло-желтый или фиолетовый цвет, с удельным весом при 20 ^{0}С 1,063-1,095) представляют собой водные растворы ЭГ. Используются для заполнения системы охлаждения двигателей внутреннего сгорания в зимнее время.

Противообледенительная жидкость «Арктика» (удельный вес при 20 ^{0}С 1,071-1,079) представляет собой водный раствор ЭГ с антикоррозионой присадкой. Применяется для удаления льда с поверхностей летательных аппаратов и предотвращения их обледенения в наземных условиях.

Этилцеллозольв – моноэтиловый эфир ЭГ (удельный вес при 20^{0}С 0,930-0,935) применяется в качестве присадки к авиационному горючему, а также как растворитель лаков и красок. ЭГ и этилцеллозольв входят в состав низкозамерзающих жидкостей ОЖК-50мц (эц), ВТЖ-Н и тормозных жидкостей «Нева» и ГТЖ-22 [Золотухин А.Н. и соавт., 1982]. ЭГ входит в состав растворителей Р-189, Р-1101, РЛ-277 (марки А, Б, В).

Смертельная доза этиленгликоля для человека при его пероральном употреблении составляет от 50 до 500 мл [Саватеев Н.В., 1978; Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001]. Летальный уровень в крови этиленгиколя составляет 2,0 г/л [Фридман Л.С. и соавт., 1998].

Клиника острой интоксикации ЭГ характеризуются умеренно выраженным начальным опьянением, скрытым периодом, развитием комы, метаболического ацидоза, а в дальнейшем токсическим поражением почек и печени (до 4-6 недель), периодом обратного развития и исходов [Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998]. Скрытый период, по данным Е.Ю.Бонитенко (1995), составляет $4{,}50 \pm 0{,}56$ ч.

Патогенез интоксикации ЭГ характеризуется действием на

организм его продуктов биотрансформации [Бережной Р.В., 1977; Румянцев А.П. и соавт., 1981; Сахаров Г.Ю., 1983; Маркова И.В. и соавт., 1998]. Алкогольдегидрогеназа служит пусковым ферментом метаболизма ЭГ, который осуществляется преимущественно в печени и почках. Продуктом реакции является гликолевый альдегид, который быстро окисляется альдегидоксидазой в гликолевую кислоту, а последняя превращается затем в глиоксиловую кислоту посредством лактатдегидрогеназы (ЛДГ, К.Ф. 1.1.1.27.) и оксидазы гидроксикислот (К.Ф.1.1.3.1.). Метаболизм глиоксиловой кислоты происходит в нескольких направлениях: необратимое превращение в щавелевую кислоту; образование муравьиной кислоты и далее через угольную кислоту расщепление на двуокись углерода и воду; обратимое трасаминирование в глицин (при участии витамина B_6); конъюгация с образованием оксаламалата, формил-КоА и др. [Parry M.F., Wallach M.D.,1974]. ЭГ метаболизируется и выводится из организма значительно быстрее метанола, в тканях он обнаруживается в течение 24-36 часов [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004].

Основными и наиболее опасными метаболитами ЭГ являются гликолевый альдегид, гликолевая, глиоксиловая и щавелевая (оксалат) кислоты. До недавнего времени наиболее токсичным метаболитом ЭГ считался оксалат, способный связывать кальций и выпадать в виде кристаллов в канальцах почек, вызывая острую почечную недостаточность [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; 2004]. Наряду с этим, установлено, что в щавелевую кислоту превращается лишь незначительная часть введенного в организм ЭГ – около 3%. Поэтому в последние годы более существенную роль отводят другим метаболитам ЭГ, которые по степени токсичности в эквимолярных концентрациях можно расположить в следующем порядке: глиоксилат, гликолевый альдегид, гликолат. Указанные метаболиты ЭГ, благодаря наличию активных групп, являются потециальными ингибиторами тканевого дыхания, сопряженного с ним окислительного фосфорилирования, синтеза белков, способны реагировать с сульфгидрильными группами ферментов, коллагеном, аминогруппами белков [Iokobsen D., 1984]. Максимальной токсичностью из указанных метаболитов обладает глиоксалат, который в очень низких концентрациях способен разобщать тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004; Gabon P.A., 1986]. Однако имеются данные, согласно которым токсичность ЭГ определяется в основном другим метаболитом – гликолатом. Хотя его ядовитость в несколько раз ниже,

чем у глиоксалата, концентрация же в биосредах приблизительно в 1300 раз выше [Chou S.Y., Richardson K.E., 1978]. Это позволило авторам считать именно гликолевую кислоту причиной выраженных обменных нарушений, развивающихся у отравленных ЭГ. Существует мнение, что именно гликолат, наряду с лактатом, формирует при отравлениях ЭГ метаболический ацидоз.

Таким образом, в метаболизме ЭГ также можно выделить два основных, лимитирующих его токсичность, звена – окисление ЭГ посредством АДГ и глиоксиловой кислоты при участии ЛДГ и оксидазы гидроксикислот. Анализ приведенных материалов свидетельствует о том, что метаболизм ЭГ в организме человека протекает по типу «летального синтеза» (токсификации).

Особенностями острого отравления ЭГ являются быстрое всасывание и попадание в кровь всей массы токсиканта через 15-30 мин, поражение печени и почек в первые часы после отравления, выраженные нарушения со стороны центральной нервной системы (ЦНС), запоздалое появление первых признаков отравления (через 18-20 ч при средней степени тяжести интоксикации), когда проведение неотложных мероприятий оказывается малоэффективным. В развитии интоксикации ЭГ выделяют два периода: период неспецифического наркотического действия неметаболизированной молекулы ЭГ на ЦНС и период морфологических деструктивных изменений внутренних органов (действие токсичных метаболитов). Различают легкую, среднюю и тяжелую формы отравлений. Отравления средней тяжести дают до 15% смертельных исходов. Все явления стихают, наступает мнимое выздоровление, если отравленный не погибает в начальном периоде интоксикации. Через 2 сут возникают симптомы почечно-печеночной недостаточности. Развивается токсическая нефропатия. В случаях с летальным исходом смерть наступает в конце 2-5 недели [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; Mokhlesi B. et al., 2003б].

Тяжелые отравления дают 100% смертельный исход в течение 15 дней. Среди умерших от смертельных отравлений ЭГ в 74% случаев люди погибали, не приходя в сознание, в течение первых и вторых суток [Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Алексеев Г.И. и соавт., 1981; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; 2004]. Несомненно, что в танатогенезе, особенно в соматогенной фазе интоксикации, существенную роль играют нарушения иммунного гомеостаза. Поэтому актуальность и важность изучения влияния перспективных иммуностимуляторов на

иммунный гомеостаз при остром отравлении ЭГ очевидны. Применение иммуностимуляторов после острой интоксикации этиленгликолем позволит снизить частоту постинтоксикационных осложнений и заболеваний, способных привести к смертельному исходу.

Патогенез супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций при остром отравлении ЭГ исследован не достаточно. Видимо, исходя из особенностей его токсикодинамики он может быть обусловлен нарушением функции иммуноцитов в результате взаимодействия с их сульфгидрильными и аминогруппами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации ЭГ (гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой, щавелевой кислот), ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [Iokobsen D., 1984; Gabon P.A., 1986]. Одной из возможных причин иммунотоксических эффектов ЭГ может являться связывание Ca^{2+} щавелевой кислотой в иммунокомпетентных клетках, что может приводить к нарушению обмена цАМФ и цГМФ и изменению их соотношения. С данными биохимическими изменениями может быть связано нарушение процессов активации, пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов [Ройт А. и соавт., 2000]. Следует принимать во внимание, что роль щавелевой кислоты в реализации иммунотоксичности ЭГ в связи с крайне быстрым ее метаболизмом может быть весьма незначительной [Кожемякин Л. А. и соавт., 1991].

Следует отметить, что в процессе метаболизма ЭГ, помимо глиоксилата, гликолевого альдегида и гликолата образуется и формиат, вследствие метаболизма глиоксиловой кислоты [Parry M. F. et al., 1974], который способен поражать преимущественно В-клетки вследствие использования для своей биотрансформации большого количества фолиевой кислоты [Ройт А. и соавт, 2000] .

Определенное влияние на иммунный статус после острой интоксикации ЭГ может оказывать изменение состояния нейроэндокринной системы [Claman H.N., 1993; Dhabhar F. S. et al., 1996], а также действие на ИКК неметаболизированной молекулы ЭГ [Забродский П.Ф., 1998].

Для оценки возможных нарушений иммунной системы под влиянием ЭГ представляют интерес данные в отношении иммунотоксических свойств эфиров этиленгликоля и пропиленгликоля, обладающих выраженным иммуносупрессивным действием [Гудзь О.В.1988; House R.V. et al., 1985; Denning D. W. et

al., 1987; Welch L.S., Cullen M.R., 1988]. Так, в опытах на мышах установлено, что моноэтиловый эфир этиленгликоля в дозах 500 и 1000 мкг/кг (внутрь, ежедневно, 5 дней в неделю в течение 2 недель) снижал массу тимуса соответственно на 22 и 28% (масса селезенки не изменялась). В отношении Т-зависимого иммунного ответа, функции В-лимфоцитов (пролиферация, индуцированная мукополисахаридом), функции Т-клеток (пролиферация под влиянием ФГА и КонА), активности естественных клеток-киллеров влияние данного соединения (дозы и экспозиция те же) выявлено не было [House R.V. et al., 1985].

Нами установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2002] (табл. 7.15), что после острого отравления ЭГ происходит увеличение летальности мышей от экспериментальной пневмонии, вызванной *Proteus vulgaris*, уменьшение $ЛД_{50}$ *Proteus Vulgaris* и Et_{50}, что свидетельствует о снижении антиинфекционной НРО.

Т а б л и ц а 7.15

Влияние острого отравления этиленгликолем на летальность от экспериментальной пневмонии (*Proteus vulgaris*), $ЛД_{50}$ *Proteus vulgaris* и Et_{50} (M±m)

Спирты	Летальность, %	$ЛД_{50}$ *Proteus vulgaris*, 10^9 микр. тел	Et_{50}
Контроль	19,9±5,2 (60)	2,21±0,07 (60)	18,1±1,1 (60)
Этиленгликоль	33,3±10,2 (21)	1,72±0,15* (21)	12,9±2,2* (21)

Примечание: в скобках - число животных; * - различия с контролем достоверны при $p<0,05$.

Под влиянием ЭГ происходило уменьшение БАСК, сывороточной активности лизоцима, тромбоцитарного катионного белка (ТКБ), функции ЕКК (ЕЦ), функциональной активности нейтрофилов, увеличение обсемененности микроорганизмами периферической крови и селезенки у крыс при экспериментальном инфицировании их Proteus Vulgaris (табл. 7.16).

Т а б л и ц а 7.16

Влияние этиленгликоля (0,8 $ЛД_{50}$) на показатели доиммунных механизмов защиты от инфекций (M±m; n=10-15)

Показатель	Контроль	Этиленгликоль

БАСК, %	82,3±8,9	60,1±6,2*
Лизоцим, мг/л	7,1±0,8	3,3±0,6*
ТКБ (β-лизин), %	60,1±2,3	48,0±4,1*
Обсемененость E. coli: периферическая кровь (0,05 мл); селезенка (10^2)	 27,2±6,3 8,9±2,2	 71,4±8,3* 69,0±10,4*
ЕЦ,%	27,1 ± 3,1	12,3 ± 2,8*
ИАН	0,28±0,04	0,16±0,02*

Примечание: ИАН – индекс активности нейтрофилов в НСТ-тесте; * - р<0,05 по сравнению с контролем.

Полученные данные свидетельствуют о том, что снижение резистентности крыс к экспериментальной инфекции при остром отравлении ЭГ может быть обусловлено наряду с другими причинами уменьшением БАСК, активности лизоцима, ЕЦ и функции нейтрофилов.

При исследовании влияния ЭГ в различных концентрациях на функцию ЕКК in vitro установлено (рис. 7.8) прямо связанное с концентрацией ЭГ снижение функции ЕКК, статистически значимое при содержании спирта в среде № 199, составляющее 100 и 1000 мМ.

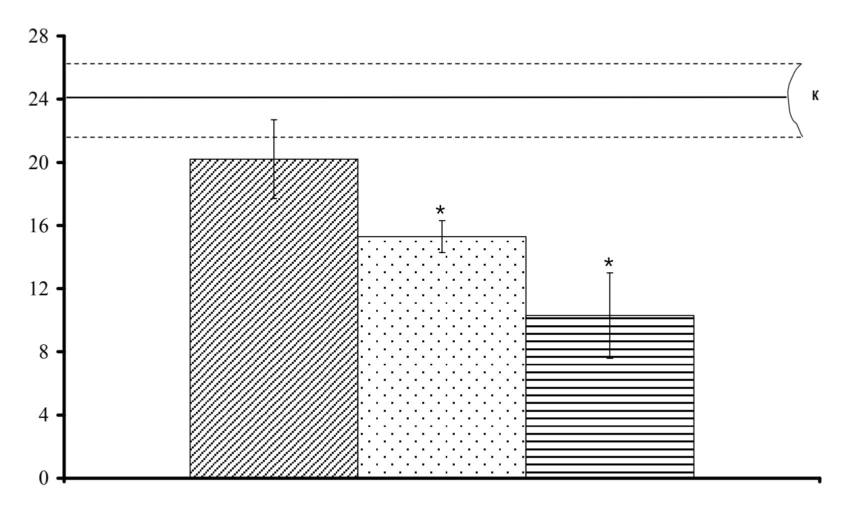


Рис. 7.8. Влияние ЭГ на функцию ЕКК у крыс Wistar in vitro (M±m; n=7-9). Концентрация, мМ: ▨ – 10; ⬚ – 100; ▤ – 1000; спленоциты в течение 4 ч клетки инкубировали с ЭГ, * – р<0,05 по сравнению с контролем.

Механизм супрессии показателей НРО in vivo, видимо, обусловлен

нарушением функции клеток крови в результате взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации ЭГ – гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой, щавелевой кислот, ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [Iokobsen D., 1984; Gabon P.A.,1986; Parry M. F., Wallach M. D., 1974]. Одной из возможных причин снижения НРО под влиянием ЭГ, вероятно, может являться связывание Ca^{2+} щавелевой кислотой в клетках крови, продуцирующих лизоцим и ТКБ, что может привести к уменьшению их синтеза.

Редукция функции ЕКК под влиянием различных концентраций ЭГ, зарегистрированное in vitro, свидетельствует о том, что поражение этих клеток может быть связано не только с действием продуктов биотрансформации ЭГ, но и его неметаболизированной молекулы.

Таким образом, острое отравлении этиленгликолем (0,8 $ЛД_{50}$) вызывает уменьшение антиинфекционной неспецифической резистентности организма (увеличение летальности мышей от экспериментальной пневмонии, вызванной *Proteus vulgaris*, обсемененности микроорганизмами периферической крови и селезенки, уменьшение $ЛД_{50}$ *Proteus Vulgaris* и Et_{50}), связанное со снижением БАСК, сывороточной активности лизоцима, тромбоцитарного катионного белка (β-лизина), функциональной активности нейтрофилов и ЕКК. Этиленгликоль в прямой зависимости от концентрации (10, 100, 1000 мМ) снижает активность ЕКК in vitro.

Нами показано [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2000], что после острого отравления этиленгликолем происходит увеличение летальности мышей от экспериментального перитонита, вызванного *E. coli* (контроль - 40±0,9; опыт - 75,0±9,6%; n=20; $p<0,05$), что свидетельствует о снижении антиинфекционной НРО (доиммунных механизмов защиты от инфекций). Под влиянием ЭГ происходит снижение числа КОЕс, уменьшение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому (ЭБ) и тимуснезависимому (Vi-Ag) антигенам соответственно в 2,0 и 1,5 раза (табл. 7.17).

Т а б л и ц а 7.17

Влияние этиленгликоля (0,8 $ЛД_{50}$) на показатели системы иммунитета (M±m; n=7-11)

Параметр	Контроль	Этиленгликоль

Число $КОЕ_с$	9,8 ± 2,1	4,1 ± 1,2*
Реакция ГЗТ %	31,6 ± 2,6	24,1 ± 2,1*
ЕЦ, %	23,1 ± 3,1	12,3 ± 2,8*
АЗКЦ, %	10,3 ± 1,8	5,1 ± 1,7*
АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	35,3 ± 4,1	17,9 ± 3,3*
АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$	29,3 ± 3,1	18,4 ± 2,8*

Примечание: * - р <0,05 по сравнению с контролем.

Острая интоксикация ЭГ приводила также к существенной супрессии реакции ГЗТ, естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности.

В опытах in vitro установлено (табл. 7.18), что ЭГ при концентрациях 10 и 100 мМ вызывает снижение функции Т-лимфоцитов по сравнению с контролем соответственно в 1,33 и 1,81 раза, а В-лимфоцитов – в 1,26 и 1,70 раза соответственно. Существенные различия в действии ЭГ in vitro на Т- и В-клетки отсутствуют (р>0,05).

Т а б л и ц а 7.18

Влияние этиленгликоля на формирование АОК иммуноцитами мышей СВА in vitro (на 10^6 В-клеток) (М+m, n=7)

Клетки, инкубированные с ЭБ	Концентрация этиленгликоля, мМ	
	10	100
$В^0$+Т	285 ± 29	211 ± 25*
В+$Т^0$	269 ± 31	198 ± 21*

Примечание: контроль – В - 63±7; В+Т- 358 ± 36; $В^0$, $Т^0$ - в течение 1 ч до добавления ЭБ клетки инкубировали с этиленгликолем; * – р<0,05 по сравнению с контролем (В+Т).

Выявленное снижение КОЕс может быть связано с гибелью стволовых кроветворных клеток под влиянием ЭГ, снижением миграции $КОЕ_с$ из костного мозга в селезенку, а также с уменьшением числа вспомогательных Т-клеток, необходимых для нормального колониеобразования. Механизм супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций in vivo, видимо, обусловлен нарушением функции иммуноцитов в результате взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации ЭГ (гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой, щавелевой кислот), ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991; Забродский П.Ф. и соавт., 2005].

Одной из возможных причин иммунотоксических эффектов ЭГ

вероятно является связывание Ca^{2+} щавелевой кислотой в иммунокомпетентных клетках (ИКК), что может приводить к уменьшению активации Т- и В-лимфоцитов вследствие снижения синтеза цГМФ, цАМФ и продукции ИЛ-2 Т-клетками [Coffey R. G., Hadden J. W., 1985; Ройт А. и соавт., 2000]. Нельзя исключить влияние на реализацию иммунных реакций после острой интоксикации ЭГ изменения состояния нейроэндокринной системы, а также действие на ИКК неметаболизированной молекулы ЭГ, что подтверждают данные, полученные in vitro. Сопоставление иммунотропных эффектов ЭГ in vivo и in vitro свидетельствует о том, что при остром отравлении этим спиртом нарушение преимущественно Т-зависимого антителообразования связано с действием продуктов биотрансформации ЭГ, так как in vitro при действии неизмененной молекулы ЭГ более выраженный повреждающий эффект на Т-лимфоциты по сравнению с В-лимфоцитами не выявлен.

Таким образом, острая интоксикация ЭГ приводит к снижению НРО, числа КОЕс, основных гуморальных и клеточных иммунных реакций. Отмечается более выраженное снижение Т-зависимого антителообразования, обусловленное, вероятно, действием продуктов биотрансформации ЭГ. Выявленные нарушения иммунного гомеостаза позволяют использовать для их коррекции средства, повышающие НРО, антителообразование, функцию естественных киллеров и К-клеток, определяющих АЗКЦ.

Нами показано [Забродский П.Ф. и соавт., 2002], что воздействие in vitro ЭГ в прямой зависимости от концентрации вызывает редукцию кооперации Т- и В-лимфоцитов, приводящую к ингибированию антителопродукции. Выявленный феномен связан с нарушением функции как Т-, так и В-клеток (табл. 7.19).

Таблица 7.19

Влияние этиленгликоля, метанола и их метаболитов на кооперацию Т- и В-лимфоцитов мышей СВА in vitro (число АОК на 10^6 В-клеток) (M+m; n=6-8)

Клетки	Концентрация, мМ		ЭГ	ГА	ГК	ГОК
			А	Б	В	Г
B^0+T	10	1	368±32	238±23*	319±30*	203±22*
	100	2	284±29*	202±18*	254±24*	149±13*
	1000	3	185±20*	98±10*	130±14*	70±9*
	10	4	341±28*	215±20*	302±30*	174±18*

В+Т^0	100	5	259±26*	172±18*	231±25*	110±9*
	1000	6	140±16*	77±7*	85±12*	69±7*

Примечание: ЭГ – этиленгликоль; ГА – гликолевый альдегид; ГК – гликолевая кислота; ГОК – глиоксиловая кислота; М – метанол; МК – муравьиная кислота; контроль: В-72± 9; В+Т- 454±45; В^0, Т^0 - Т- и В-клетки в течение 1 ч до добавления ЭБ инкубировали со спиртами или их метаболитами; *- различие с контролем (В+Т) достоверно – р<0,05; различия достоверны - р<0,05: 1А-1Б, 1А-1Г, 1А-2А, 1А-3А, 1Б-1В, 1В-1Г, 1Г-2Г, 2А-2Б, 2А-2Г, 2Б-2В, 2Б-2Г, 2В-2Г, 2В-3В, 2Г-5Г, 3А-3Б, 3А-3В, 3А-3Г, 3Б-3Г, 3Б-6Б, 3В-3Г, 3В-6В, 4А-4Б, 4А-4Г, 4А-5А, 4А-6А, 4Б-4В, 4Б-6Б, 4В-4Г, 5А-5Б, 5А-5Г, 5Б-6Б, 5В-5Г, 6А-6Б, 6А-6В, 6А-6Г.

Снижение функции В-лимфоцитов в процессе кооперации по сравнению с контролем при концентрации ЭГ 10, 100 и 1000 мМ составило соответственно 18,9; 37,4 и 59,2%, а Т-клеток – соответственно – 24,9; 42,9 и 69,1% (р>0,05).

При действии на Т - и В-лимфоциты гликолевого альдегида (ГА), гликолевой кислоты (ГК) и глиоксиловой кислоты (ГОК) отмечалась прямо связанная с дозой редукция их способности участвовать в кооперации лимфоцитов. Метаболиты ЭГ оказывали более выраженное воздействие на Т-клетки, причем при их концентрациях, составляющих 1000 мМ (действие ГА и ГК) и 100 мМ (эффект ГОК); нарушение функции Т-лимфоцитов по сравнению с В-лимфоцитами было статистически достоверно (р<0,05).

Следует отметить, что число АОК при инкубации ЭБ только с В-лимфоцитами статистически значимо не отличающееся от показателя, полученного при инкубации Т-, В-клеток и ЭБ, что свидетельствует о практически полном нарушении кооперации лимфоцитов в процессе антителогенеза. Так, о значительном ингибировании кооперации лимфоцитов можно утверждать при действии метаболитов этиленгликоля (при концентрации 1000 мМ) ГА и ГОК вследствие поражения Т- и В-лимфоцитов и при эффекте ГК в результате нарушения функции Т-клеток.

Сравнительная оценка действия на кооперацию Т- и В-лимфоцитов in vitro в процессе антителогенеза продуктов биотрансформации ЭГ позволяет заключить, что снижение их иммунотоксичности в целом происходит в последовательности: ГОК, ГА и ГК, причем супрессирующие эффекты ГОК существенно выше воздействия ГК, а действие ГА превышает эффект ГК.

Патогенез редукции активности Т- и В-клеток в процессе их кооперации, вероятно, связан с нарушением их функции как в результате прямого мембранотоксического эффекта спиртов, так и вследствие взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами

энзимов лимфоцитов высокотоксичных продуктов их биотрансформации, ингибирования ими тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования и синтеза белков [Забродский П.Ф., 1998; 2002], уменьшении активации Т- и В-лимфоцитов вследствие снижения продукции циклических нуклеотидов и секреции ИЛ-2 Т-клетками [Сухих Г.Т. и соавт., 1986; Coffey R. G., Hadden J. W, 1985].

In vivo иммунотоксические эффекты метаболитов спиртов, по-видимому уменьшаются в последовательности: ГА, ГК, ГОК. Это связано с тем, что наиболее токсичная ГОК определяется в биосредах в концентрации 1300 раз меньшей, чем ГК [Chou S.Y., Richardson K.E., 1978].

Таким образом, в опытах in vitro редуцирующий эффект этиленгликоля, метанола на кооперацию Т- и В-лимфоцитов в эквимолярных концентрациях (10, 100 и 1000 мМ) существенно не отличается. Снижение способности Т- и В-клеток участвовать в кооперации под влиянием ЭГ, М и продуктов их биотрансформации в эквимолярных концентрациях in vitro уменьшается в следующей последовательности: ГОК, ГА, ГК, и ЭГ (эффекты прямо связаны с концентрацией). Действие ЭГ, его метаболитов и М на Т-лимфоциты обусловливает более выраженную супрессию кооперации лимфоцитов.

Исследование суммарной продукции радикалов (СПР), активности каталазы, пероксидазы и малонового альдегида является информативным показателем ПОЛ при интоксикациях [Клинцевич А.Д. и соавт., 1994]. При этом каталаза и пероксидаза характеризует антиперекисную защиту, а малоновый альдегид является показателем активности процессов ПОЛ.

Наши исследования влияния показали, что острая интоксикация ЭГ инициирует ПОЛ [Забродский П.Ф., Лим В.Г. и др., 2006] (табл. 7.20). Происходит увеличение суммарной продукции радикалов (СПР) и содержания малонового диальдегида (МДА) в крови и снижение активности каталазы и пероксидазы. Так, ЭГ статистически значимо ($p<0,05$) повышал СПР в 2,12 раза, а содержание в крови МДА - в 1,39 раза ($p<0,05$). ЭГ статистически достоверно ($p<0,05$) снижал активность каталазы в крови в 1,50 раза. Аналогичное действие токсикант оказывал на активность пероксидазы.

Т а б л и ц а 7.20

Действие острой интоксикации этиленгиликолем (0,75 ЛД50) на

показатели перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (M+m, n=6-8)

Токсиканты	СПР, усл. ед.	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	МДА, нмоль/мл
Контроль	20,4±5,9	264,5±27,5	39,7±3,9	6,54±0,51
Этиленгликоль	43,2±6,3*	176,0± 24,5**	28,0± 2,7*	9,07± 0,61*

Примечание: СПР – суммарная продукция радикалов; МДА – малоновый диальдегид; *, **– различие с контролем достоверно - $p<0,05$ (*, ** – для расчета достоверности различий использовали соответственно t – критерий Стьюдента и непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни).

Изменения показателей ПОЛ в плазме крови несомненно отражают процесс свободнорадикального окисления липидов, как всех клеток различных органов в целом, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов. Существуют основания считать, что стресс-реакция, приводящая к повышению уровня кортикостероидов и катехоламинов в крови под влиянием ксенобиотиков, может являться одним из факторов, инициирующим ПОЛ [Меерсон Ф.З., 1984; Валеева И.Х. и соавт., 2002].

При вычислении коэффициентов корреляции между числом АОК к ЭБ, реакцией ГЗТ при остром отравлении ЭГ и суммарной продукцией радикалов установлено, что они составляли соответственно -0,741 ($p<0,05$) и -0,754 ($p<0,05$). Коэффициенты корреляции при остром отравлении ЭГ между АОК к ЭБ, реакцией ГЗТ и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс составляли от 0,702 до 0,759 ($p<0,05$).

Таким образом, инициация ПОЛ под влиянием ЭГ является одним из факторов, способствующих формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния.

Экспериментально показано [Забродский П.Ф. и соавт., 2006], что острая интоксикация ЭГ повышает концентрацию кортикостерона в плазме крови крыс через 1 и 3 ч соответственно в 5,2 и 2,3 раза ($p<0,05$). Через 12 ч содержание кортикостерона в плазме крови после действия ЭГ восстанавливается до контрольного значения. Выявлена обратная корреляция между гуморальной иммунной реакцией, формированием ГЗТ, активностью ЕКК и концентрацией кортикостерона в крови после острого отравления спиртами и хлорированными углеводородами, что свидетельствует о том, что роль кортикостерона в супрессии иммунных реакций и клеточного звена иммунитета весьма существенна.

Результаты сравнительного изучения влияния эфиров

этиленгликоля на морфологический состав периферической крови крыс свидетельствуют о том, что токсичность этих соединений возрастает по мере увеличения углеродной цепи алкильного радикала от этилгликольацетата к бутилцеллозольву [Гудзь О.В. 1988]. У лиц, связанных с использованием красителей, содержащих эфиры этиленгликоля, отмечались анемия (10%) и гранулоцитопения (5%) [Welch L.S., Cullen M.R., 1988]. Пропиленгликоль, используемый в парфюмерной промышленности в качестве растворителя, существенно снижает функцию ЕКК и моноцитов человека [Denning D. W. et al, 1987].

Таким образом, исследованные в настоящее время иммунотоксические свойства этиленгликоля и эфиров этиленгликоля позволяют заключить, что данные соединения вызывают редукцию доиммунных механизмов защиты (неспецифической резистентности организма) и иммунных реакций.

7.3.2. Фармакологическая коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации этиленгликолем

В экспериментальных исследованиях нами показано [Забродский П.Ф. и соавт., 2005], что после острого отравления ЭГ (табл. 7.21) происходит увеличение летальности крыс от экспериментального перитонита, вызванного *E.coli* (контроль - 35,0±10,7) в 1,57 раза ($p>0,05$). Применение этанола вызывает достоверное увеличение летальности по сравнению с контролем в 2,0 раза ($p<0,05$), что свидетельствует о снижении антиинфекционной НРО (доиммунные механизмы защиты от инфекций).

Т а б л и ц а 7.21

Влияние этанола и 4-метилпиразола на НРО при остром отравлении этиленгликолем (M±m)

Серии опытов		Летальность, %	LD_{50} *E. coli*, 10^9 микр. Тел	Et_{50} ,ч	$ЕЦ_{50}$,%
Контроль	1	35,0±10,7 (20)	2,16±0,20 (20)	18,5±1,9 (20)	34,1 ± 3,2 (9)
ЭГ	2	55,0±13,3 (14)	1,60±0,17 (14)	12,1±1,3 (14)	18,1 ± 2,3 (6)
ЭГ + этанол	3	70,0±14,5 (10)	1,16±0,13 (10)	7,4±1,7 (10)	10,6 ± 2,7 (6)
ЭГ + 4-МП	4	62,5±17,1 (8)	1,37±0,19 (8)	10,9±1,6 (14)	15,2 ± 2,8 (6)
4-МП	5	42,8±13,2 (14)	1,75±0,18 (14)	14,5±1,4 (14)	24,5 ± 2,5 (6)
$p<0,05$ уровень достоверности		1-2 (χ^2), 1-3, 1-4 (χ^2)	1-2, 1-3, 1-4, 2-3	1-2, 1-3, 2-3, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 2-3, 3-5, 4-5

Примечание: в скобках – число животных.

Под влиянием ЭГ происходит статистически значимое ($p<0,05$) снижение $ЛД_{50}$, уменьшение Et_{50} и ЕЦ ($p<0,05$). При применении антидота ЭГ этанола - конкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы - все описанные сдвиги были более выражены, причем по сравнению с изолированным действием ЭГ комбинация яда и антидота приводила к достоверному ($p<0,05$) снижению ЕЦ и Et_{50}.

Применение антидота ЭГ 4-метилпиразола – безконкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы – после острой интоксикации ЭГ оказывало менее выраженное супрессирующее действие на показатели НРО по сравнению с действием ЭГ в комбинации с этанолом. Изолированное применение 4-МП вызывало меньшую редукцию показателей НРО, чем эффект острого отравления ЭГ. Полученные результаты свидетельствуют, что в целом комбинированное действие ЭГ и 4-МП характеризуется аддитивным эффектом (суммацией эффектов) менее выраженным, чем при остром отравлении ЭГ с применением этанола. Следует отметить, что этанол и 4-метилпиразол снижали летальность крыс при остром отравлении ЭГ соответственно на 28,6 и 42,8%.

При исследовании влияния этанола и 4-МП при острой интоксикации ЭГ на показатели системы иммунитета установлено (табл. 7.22), что этанол усиливал супрессию АЗКЦ и реакцию ГЗТ. Установлено, что под влиянием острой интоксикации ЭГ происходило снижение гуморального имунного ответа к Т-зависимому (ЭБ) и Т-независимомому (Vi-Ag) антигенам. Этанол после применения ЭГ вызывал более выраженную супрессию этих параметров ($p<0,05$). Применение 4-МП после острого отравления ЭГ вызывало меньшую супрессию показателей системы иммунитета, чем действие острого отравления ЭГ с применением этанола. Изолированное воздействие 4-МП оказывало меньшую редукцию гуморального и клеточного иммунного ответа, чем действие ЭГ.

Т а б л и ц а 7.22

Влияние этанола и 4-метилпиразаола на гуморальные и клеточные иммунные реакции при остром отравлении этиленгликолем ($M \pm m$; n=7-9)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag , $\cdot 10^3$	АЗКЦ, %	ГЗТ, %

Контроль	1	30,1 ± 3,0	23,5 ± 2,8	11,7 ± 1,3	33,4 ± 3,1
ЭГ	2	17,5 ± 3,1	15,5 ± 1,9	6,2 ± 1,1	23,2 ± 2,5
ЭГ + этанол	3	11,4 ± 2,5	10,0 ± 1,7	4,1 ± 0,8	19,0 ± 1,6
ЭГ + 4-МП	4	20,4 ± 2,3	18,6 ± 1,6	8,3 ± 0,9	25,0 ± 2,1
4-МП	5	23,4 ± 3,1	21,0 ± 2,0	9,0 ± 1,0	29,2 ± 2,6
$p<0,05$ – уровень достоверности		1-2, 1-3, 1-4, 3-4, 3-5	1-2, 1-3, 2-3, 3-4, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 3-4, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 3-4, 3-5

Полученные данные позволяют полагать, что при комбинированном действии ЭГ и этанола суммация иммунотоксических эффектов спиртов и их метаболитов обеспечивает более выраженное иммунотоксическое воздействие, чем острая интоксикация ЭГ с применением 4-МП. Это связано с практически полным отсутствием редуцирующего действия высокотоксичных метаболитов ЭГ и этанола. При действии антидота 4-МП при отравлении ЭГ блокируется «летальный синтез» этиленгликоля до гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой и щавелевой кислот. При этом иммунотоксическое действие ЭГ уменьшается.

Выявленное усиление иммунотоксичности ЭГ этанолом и несущественное снижении иммуносупрессивных эффектов ЭГ 4-метилпиразолом предполагает обязательное включение в схему лечения острой интоксикации ЭГ иммуностимуляторов.

В экспериментальных исследованиях нами установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2005] (рис. 7.9) снижение активности ЕКК при острой интоксикации ЭГ в дозе 1,0 ЛД$_{50}$. Применение Т-активина в дозе 2,5 мкг/кг в течение 3 сут после отравления ЭГ восстанавливало активность ЕКК. Дозы Т-активина, составляющие 0,5 и 1,0 мкг/кг, несущественно увеличивали функцию ЕКК ($p>0,05$). Отмечается прямая зависимость эффекта Т-активина от дозы после отравления ЭГ.

Полученные эксперименты позволяют предполагать, что снижение активации ЕКК, пораженных ЭГ, происходит вследствие недостаточной продукции γ-интерферона Th1-лимфоцитами, так как γ-ИФ является наиболее мощным активатором ЕКК [Ройт А. и соавт., 2000].

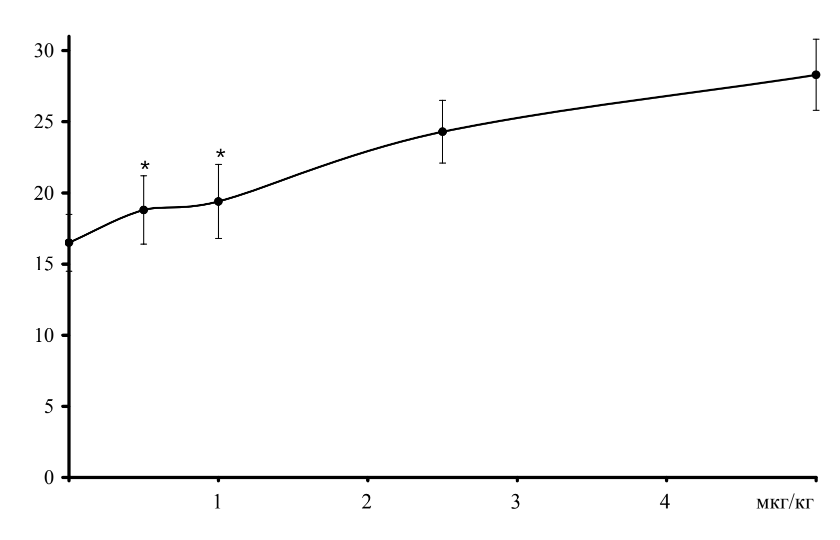


Рис. 7.9. Влияние Т-активина на активность ЕКК (%) мышей при острой интоксикации этиленгликолем в дозе 1,0 $ЛД_{50}$ (М±m; n=11-14):
* - различие с контролем достоверно - p<0,05.

Проведенные опыты показали, что Т-активин восстанавливает постинтоксикационное нарушение функции ЕКК, стимулируя продукцию γ-интерферона (и других типов ИФ), который активирует эти клетки, а также, вероятно, индуцирует экспрессию рецепторов ИЛ-2 на поверхности Th0-лимфоцитов.

Нами установлено (табл. 7.23), что применение миелопида и полиоксидония (ежедневно, однократно, в течение 4 сут в дозах соответственно 10 и 100 мкг/кг) после острой интоксикации ЭГ увеличивало число АОК к ЭБ на 5 и 8 сут, число АОК к Vi-Ag, активность ЕКК, реакцию ГЗТ по сравнению с показателями при интоксикации (p<0,05).

Таблица 7.23

Влияние острой интоксикации ЭГ в дозе 0,75 DL_{50} и фармакологической коррекции миелопидом и полиоксидонием (ПО) на показатели системы иммунитета крыс (М±m; n=7-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ (IgM), 10^3	АОК к ЭБ (IgG), 10^3	АОК к Vi-Ag, (IgM), 10^3	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	30,1±3,1	14,0±1,4	23,5 ± 2,3	30,2±3,2	30,3±2,6

ЭГ	17,2±1,4*	8,3±1,1*	15,0±1,5*	19,1±2,0*	19,5±1,4*
ЭГ + миелопид	24,9±2,7	13,2±1,6	24,1±2,2	26,2±2,3	25,0±2,4
ЭГ + ПО	29,9±3,0	11,2±1,3	19,2±2,4	29,2±2,6	31,0±2,5

Примечание: * - отличия достоверны (p<0,05) по сравнению с контролем.

ПО по сравнению с миелопидом оказывал на функцию Th1-лимфоцитов (АОК к ЭБ и Vi-Ag через 5 сут после иммунизации, ЕЦ, ГЗТ) больший активирующий эффект, а на Т-независимую продукцию IgM В-клетками - меньшее стимулирующее действие.

Таким образом, применение миелопида и полиоксидония при отравлении ЭГ полностью восстанавливало иммунные реакции.

Подводя итог результатам исследований, изложенным в данном разделе, можно заключить, что острая интоксикация этиленгликолем в условиях эксперимента на животных вызывает супрессию гуморальных и клеточных иммунных реакций. Наиболее чувствительными к действию метанола (0,75 ЛД$_{50}$) являются Т-лимфоциты. Основными механизмами нарушения иммунного гомеостаза этиленгликолем, приводящими к постинтоксикационному иммунодефицитному состоянию, являются: нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов; иммуносупрессивный эффект кортикостероидов и инициация ПОЛ. Этанол (конкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы) при использовании его в качестве антидота при остром отравлении ЭГ усиливает вызванную им редукцию иммунных реакций. Антидот ЭГ этанол (конкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы) увеличивает вызванную этиленгликолем супрессию иммунного ответа, а 4-метилпиразол (безконкурентный ингибитор алкогольдегидрогеназы) снижает ее. Применение Т-активина в дозе 2,5 мкг/кг в течение 3 сут после отравления ЭГ восстанавливало активность ЕКК. Иммуностимуляторы миелопид и полиоксидоний восстанавливают параметры системы иммунитета после острого отравления этиленгликолем.

7.4. Этанол

7.4.1. Токсикология этанола. Иммунотоксические свойства

Этанол (этиловый спирт, винный спирт, алкоголь) – небольшая амфифильная органическая молекула без изомерных атомов углерода. Бесцветная жидкость с характерным запахом. Получается сбраживанием пищевого сырья, гидролизом растительных материалов и синтетически (гидратацией этилена). Спирт-ректификат имеет температуру кипения $78{,}4^0$С. Содержит приблизительно 4,5% воды.

Может быть обезвожен (превращен в спирт абсолютный). Хорошо растворяется воде, умеренно – в нейтральных жирах. Применяется для получения синтетического каучука, этилового эфира, как растворитель, для приготовления спиртных напитков. С техническими целями используется как антиобледенитель в авиации, растворитель для морилок, политур, клея и т.п. Этанол широко используется в медицинской практике, прежде всего, как антисептик и консервант. В быту растворы этанола (водка, столовые вина, пиво, кумыс) используются с целью повышения аппетита, а также для получения опьянения.

Смертельная доза этанола при однократном приеме внутрь составляет 300-800 мл (5-13 г/кг) [Фридман Л.С. и соавт., 1998; Лужников Е.А. и Костомарова Л.Г., 2000]. 250 мл этанола соответствуют 600 мл водки и создают концентрацию в крови, составляющую приблизительно 6,0 г/л [Виноградов В.М. и соавт., 1985]. Летальный уровень в крови Э составляет 3,5-5,0 г/л [Фридман Л.С. и соавт., 1998].

Этанол относится к веществам, вызывающим злоупотребление (наркотикам) [Фридман Л.С. и соавт., 1998]. Смертность от причин, связанных с употреблением алкоголя, за последние годы неуклонно растет [Нужный В.П. и соавт., 1996; Нужный В.П., 2001; Mokhlesi B. et al., 2003б]. Не вызывает сомнения, что в возникновении летальных исходов при остром отравлении этанолом и его постоянном потреблении не последнюю роль играет развитие постинтоксикационного иммунодефицитного состояния [Забродский П.Ф., 2002].

Этиловый спирт всасывается через слизистые оболочки полости рта и пищевода (небольшое количество), примерно 20% его резорбируется в желудке и до 80% - в тонком кишечнике (значительная часть – в двенадцатиперстной кишке). Распределение его прямо пропорционально гидратации тканей и обратно пропорционально содержанию жира (в жировой ткани концентрация его не превышает 30% от уровня в крови). Распределение по тканям после всасывания продолжается 1-1,5 ч. В этой фазе содержание этанола в крови выше, чем в органах, в фазе элиминации – наоборот [Виноградов В.М. и соавт., 1985; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; Mokhlesi B. et al., 2003б].

Этиловый спирт окисляется тремя ферментными системами: системой алкогольдегидрогеназы (70-80%), микросомальной этанол-оксидирующей системой (10-15%) и системой каталазы, а также

системой оксидаз и пероксидаз тканей (10-15%). В патогенезе интоксикации главный метаболит этанола ацетальдегид, образующийся с участием АДГ. Несмотря на то, что его концентрация в крови на 2-3 порядка меньше, чем алкоголя, он играет решающую роль в интоксикации. Ацетальдегид окисляется при помощи ацетальдегидрогеназы в ацетат, который при участии ацетил-КоА окисляется до углекислого газа и воды с образованием энергии (100 г этанола образует 700 ккал энергии) [Виноградов В.М. и соавт., 1985; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2001; Mokhlesi B. et al., 2003б]. Ацетальдегид увеличивает высвобождение из адренергических нервных окончаний катехоламинов, которые повышают тонус резистивных сосудов (артерий мышечного типа, артериол), вызывают тахикардию, повышают потребность миокарда и других тканей в кислороде. Показано, что ацетальдегид способен конденсироваться с некоторыми катехоламинами, в частности, с дофамином, с образованием тетрагидроизохинолинов, которые способны вызывать галлюцинации и провоцировать абстиненцию [Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. 1998; Blum K. et al.. 1988].

После острого тяжелого отравления часто возникают (особенно у алкоголиков) инфекционные осложнения и заболевания, которые могут приводить к смерти. В танатогенезе существенную роль может играть снижение показателей системы иммунитета.

Данные в отношении иммунотоксических свойств этанола свидетельствуют, что этиловый спирт in vitro (10-50 мМ, инкубация 3 сут) уменьшал пролиферацию Т-лимфоцитов человека, индуцированную ФГА и КонА на 25-85% [Roselle G.A., Mendenhall C.L., 1982]. У крыс Wistar этанол (12 г/кг ежедневно, перорально, в течение 6 недель) на 30% снижал функцию перитонеальных макрофагов [Morland B., Morland I., 1982]. Аналогичные данные получены при однократном внутрижелудочном введении крысам 0,5 мл этилового спирта [Ali M.V., Nolan J.P., 1967]. Внутриклеточное переваривание полиморфноядерными лейкоцитами (ПЯЛ) E.coli у крыс снижалось при потреблении ими 20% этанола в течение 3 недель [Galante P. et al., 1982]. In vitro этанол (64 мкг/мл, экспозиция 30 мин) на 80% снижал данный показатель при использовании S.augeus [Hallengren B., Forsgren A., 1978]. При концентрации этанола, составлявшей 0,8 и 1,6 мкг/мл, in vitro (экспозиция 30 мин) хемотаксис ПЯЛ человека увеличивался на 10% , концентрации 3,2 и 6,4 мкг/мл не изменяли данный показатель, а увеличение содержания этанола до 64 мкг/мл снижало хемотаксис ПЯЛ на 99% [Hallengren B., Forsgren A.,

1978]. Аналогичные результаты получены при использовании этанола при концентрациях 8-20 мг/кг (экспозиция 1 ч) [Spagnuolo P.J., McGregor R.R. , 1975].

Показано, что активность ЕКК и К-клеток, определяющих антителозависимую клеточную цитотоксичность, у человека снижается в прямой зависимости от концентрации этанола (но не его метаболита – уксусного альдегида), что не связано с блокированием спиртом интерферона [Stasey N.H., 1985]. При иммунизации мышей эритроцитами барана однократная доза этанола, составляющая 7 г/кг, ослабляла продукцию антител классов IgM и IgG1, но не влияла на синтез антител IgG2 [Carson E.J., Pruett S.B., 1996]. Однократное введение здоровым испытуемым этанола внутривенно или внутрь в дозе 0,5 г/кг не оказывало влияния на активность естественных киллеров. В то же время 4-часовая инкубация лимфоцитов человека в присутствии этанола при концентрации, равной или более 80 мг/дл, оказывала дозозависимый эффект, подавляя естественную киллерную активность [Meadows G.G. et al., 1989]. Предполагается, что в основе снижения резистентности у больных алкоголизмом к вирусам и опухолям лежит прямое воздействие этанола на ЕКК [Oschshorn-Adelson M. et al., 1994].

Установлено, что ингибирование функциональной активности макрофагов этанолом опосредовано изменением обмена циклических нуклеотидов, в частности, внутриклеточного цАМФ [Токмаков А.А., Денисенко В.Ю., 1989].

Описаны данные, позволяющие полагать, что у потомства алкоголизированных крыс инфекционный процесс может изменять свое течение и будет протекать в хронической рецидивирующей форме в результате нарушения реактивности тимуса [Куркин А.В. и соавт., 1990].

Этанол в концентрациях, сходных с таковыми в сыворотке крови людей, при умеренном употреблении алкоголя подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, индуцированную митогенами, форболмиристатацетатом и моноклоцитов, индуцированную митогенами, форболмиристатацетатом и моноклональными антителами к антигену CD3. Этанол не влиял на продукцию ИЛ-2 и экспрессию рецепторов к ИЛ-2, но обладал способностью блокировать активность экзогенного ИЛ-2 [Kaplan D.R. , 1986].

При введении крысам этанола в дозе 1 мл/кг в течение 15 сут внутрь установлено, что спленоциты выделяют как иммуностимулирующие (2 фактора с молекулярной массой 10-25 и

более 100 кД), так и иммуносупрессирующие факторы (2 фактора с молекулярной массой более 100 кД). Отмену иммунодефицитного состояния можно вызвать кроличьей антисывороткой к супрессирующим факторам при ее 5-кратном внутривенном введении [Смахтин М.Ю. и соавт., 1994].

Этиловый спирт in vitro снижал активность ЕКК мышей при концентрациях 0,5; 1 и 2% (экспозиция 4 ч) соответственно на 30, 60 и 90 % [Saxena A. K., Adler W.H., 1982]. При введении крысам этанола внутривенно (первичная доза 1,75 г/кг, затем в течение 7 дней в дозе 0,3 г/кг) или внутрь (12-14 нед, 36% от общей калорийности рациона) установлено, что острое введение спирта подавляет вызванную липополисахаридом (ЛПС) секрецию макрофагами α-фактора некроза опухоли (ФНОα), усиливая продукцию O^-_2, индуцированную форболмиристатацетатом (ФМА) и опсонизированным зимозаном. Хроническое воздействие этанола подавляло как спонтанное, так и продуцированное ЛПС выделение ФНОα. При этом также отмечали ослабление секреции O^-_2 клетками, стимулированными ФМА [D'Souza N.B. et al., 1996].

Установлено, что сыворотка больных алкоголизмом подавляет ответ нормальных лимфоцитов на митогены. В циркулирующей крови больных снижено количество Т-лимфоцитов, но не В-клеток. ЕКК у больных часто лизируют аутологичные гепатоциты; у алкоголиков и животных, получавших систематически 2-16% раствор алкоголя в питьевой воде, повышалась активность ЕКК. Однако спирт, добавленный в раствор ЕКК с клетками-мишенями in vitro, снижает активность ЕКК. У животных и людей после приема алкоголя снижается накопление ПЯЛ в ранах, что связано со снижением их миграционной способности [Watson R.R. et al., 1984].

В опытах на мышах установлено, что этанол при остром и хроническом действии снижает продукцию IgA и IgG, реакцию ГЗТ [Waltenbaugh C. et al., 1997, 1998] и увеличивает апоптоз ИКК [Ewald S.J., Shao H., 1993]. Опыты на крысах показали, что этиловый спирт вызывает редукцию секреции фактора некроза опухоли-α (ФНОα) [Nelson S.G., 1989; Kolls J.K. et al., 1995], хемокинов клетками Купффера и ИКК [Bautista A. P., 2001; Zhang P. et al., 2002]. In vitro в опытах на клетках мышей и человека алкоголь снижал цитотоксическую функцию макрофагов [Bagasra O., Pomerantz R. J., 1993], продукцию цитокинов ИКК [Wagner F. et al., 1992; Szabo G. et al., 1992, 1993; Chen G.J. et al., 1993; Wang Y. et al., 1994a, 1994б], экспрессию рецептора к ФНОα [Bermudez L.E. et al., 1991a; 1991б] и

пролиферацию Т-клеток [Szabo G. et al., 2001]. У мышей прием алкоголя снижал резистентность к экспериментальной инфекции, вызванной листериями [Saad A.J. et al., 1993; Jerrells T.R., Sibley D., 1995], салмонеллами [Jerrells T.R., Sibley D., 1995; Sibley D., Jerrells T.R., 2000], стрептококками [Shahbazian, L. M. et al., 1992], ретровирусами [Wang Y. et al., 1993; Wang, Y., Watson R. R.., 1994б; Sepulveda R.T. et al. 2002].

Необходимо отметить, что результаты исследования Быковой А.А. и Седининой Н.С. (2002), показывающие способность этанола вызывать иммунные и аутоиммунные эффекты, возможность иммунного ответа на низкомолекулярные соединения (этанол, дофамин) в условиях in vivo и ex vivo следует рассматривать как весьма спорные. Существующие в настоящее время данные не позволяют рассматривать этанол в качестве аллергена или вещества, вызывающего аутоиммунные эффекты. Авторы рассматривают активацию иммунной системы при поступлении этанола как защитную реакцию, направленную на восстановление нарушенного химического гомеостаза организма. Данное утверждение носит спекулятивный характер, так как способность этанола проявлять иммуностимулирующие свойства по данным литературы отсутствует, а активация иммунной системы отнюдь не является защитной реакцией, восстанавливающий «химический гомеостаз» (понятие неопределенное и по своей сути не научное). Иммунные реакции, как уже упоминалось, направлены на распознавания поврежденных патогеном клеток и тканей лимфоцитами с целью деструкции и выведения их из организма [Хаитов Р.М. и соавт., 2002]. Весьма сомнительны также данные Евсеева В.А. и соавт. (1983), описывающие иммунодепрессивное противовоспалительное действие этанола и развитие повышенной чувствительности к нему лейкоцитов крови и тучных клеток крыс.

Нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2005] (табл. 7.24) при исследовании содержания антителообразующих клеток (АОК) в селезенке к ЭБ у белых мышей после острой интоксикации этанолом (0,75 $ЛД_{50}$) через 5 сут после иммунизации (при действии токсикантов в индуктивной фазе антителогенеза) было установлено существенное уменьшение числа АОК в 1,28 раза. При введении этанола в продуктивной фазе иммуногенеза число АОК к ЭБ в селезенке мышей уменьшалось в 1,90 раза ($p<0,05$). Таким образом, сравнительная степень редукции синтеза IgM (по числу АОК) этанолом при их действии в продуктивный период антителогенеза была несущественно

выше, чем в индуктивной фазе.

Таблица 7.24

Влияние острого отравления этанолом (0,75 ЛД50) на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана (10^3), синтезирующим Ig M, в селезенке белых мышей через 5 сут в индуктивной и продуктивной фазах антителогенеза (M+m, n=6-7)

Токсиканты	Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут	
	0	3
Контроль	29,5±2,3	
Этанол	23,1±1,8*	19,0±1,5*

Примечание: * - различие с контролем достоверно - p<0,05.

Нами показано (рис. 7.10), что при острой интоксикации этанолом (0,75 $ЛД_{50}$) происходит незначительное снижение реакции ГЗТ (без переноса клеток) [p>0,05]. При переносе спленоцитов после иммунизации крыс-доноров линии Август реакция ГЗТ отражает формирование вторичного клеточного иммунного ответа, так как после введения этих клеток сингенные крысы-реципиенты за 4 сут до введения разрешающей дозы антигена (ЭБ), получали его путем внутрибрюшинной иммунизации. В этой реакции основную роль играют Th1-лимфоциты спленоцитов доноров после действия на них токсикантов. Установлено, что в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ этанол снижал исследованную реакцию ГЗТ в 1,28 раза (p<0,05).

Выявленные изменения формирования ГЗТ в различных моделях позволяют заключить, что этанол вызывает супрессию Th1-лимфоцитов как в первичном, так и вторичном клеточном иммунном ответе.

Известно, что Th1-лимфоциты обеспечивают реализацию реакции ГЗТ путем активации макрофагов. В основном Th1-лимфоциты регулируют физиологические механизмы, обеспечивающие функцию T-звена иммунитета [Хаитов Р.М и соавт., 2000; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Kimber I., 1996]. Полученные нами результаты косвенно свидетельствуют о том, что ТХВ уменьшают способность Th1-лимфоцитов синтезировать ИЛ-12, ИЛ-3, γ-интерферон и β-фактор некроза опухоли (лимфотоксин), участвующие в формировании ГЗТ [Ройт А. и соавт., 2000; Шуршалина А.В. и соавт., 2001; Kimber I., 1996]. Кроме того, использованный этанол путем реализации различных иммунотропных механизмов, вероятно, снижает активность и других клеток, обеспечивающих формирование ГЗТ, в частности T-клеток

памяти и макрофагов [Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

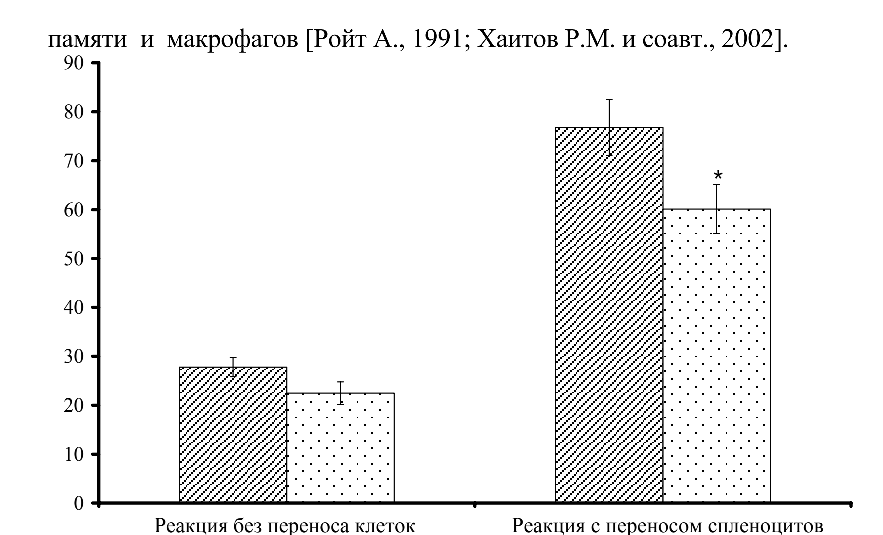


Рис. 7.10. Влияние острого отравления этанолом (0,75 $ЛД_{50}$) на формирование гиперчувствительности замедленного типа у крыс по приросту массы задней стопы, % (M±m, n=6-7);
– контроль; – этанол; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

В экспериментальных исследованиях нами показано, что при действии этанола в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ на АЗКЦ селезенки мышей при иммунизации ЭБ одновременно с интоксикацией (индуктивная фаза иммуногенеза) и действии спирта через 3 сут после иммунизации (продуктивная фаза иммуногенеза) происходило существенное уменьшение активности К-клеток (ЕКК, участвующих в реакции в присутствии IgG) ($p<0,05$) через 5 сут после иммунизации (рис.7.11).

Этанол, по-видимому, способен уменьшать АЗКЦ вследствие нарушения электролитного обмена клетки (перекисное окисление липидов мембран ИКК, нарушение их проницаемости), приводящего к изменению соотношения цАМФ/цГМФ [Trinchievi G., de Marchi M., 1976].

При введении крысам метоксиэтанола внутрибрюшинно ежедневно на протяжении 10 сут в дозах 50-200 мг/кг наблюдали снижение массы тимуса, подавление бласттрансформации Т-лимфоцитов (индуцированной ФГА и КонА) и продукции ИЛ-2. Продукция АОК к эритроцитам барана увеличилась при дозе метоксиэтанола 50 мг/кг, 2-метоксиуксусная кислота (метаболит метоксиэтанола) подавляла гуморальный иммунный ответ. Ингибитор

алкогольдегидрогеназы 4-метилпиразол снижал иммунодепрессивные свойства метоксиэтанола [Smialowicz R.J. et al., 1991].

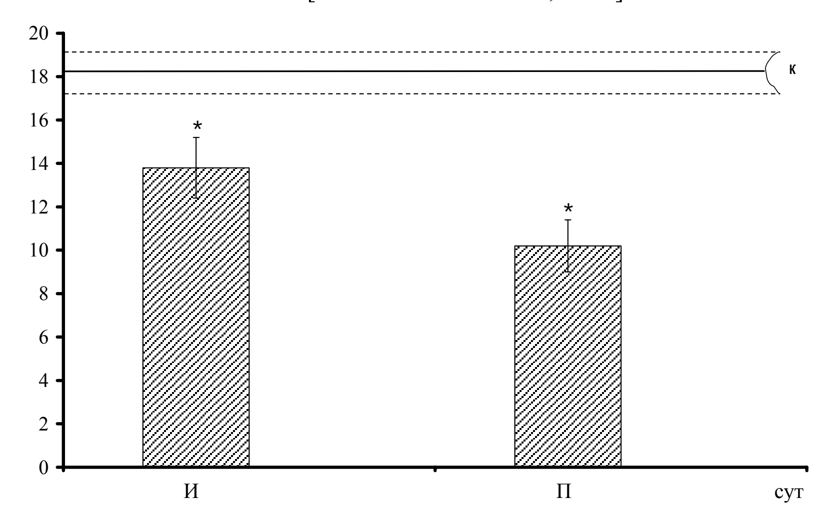


Рис. 7.11. Влияние острого отравления этанолом (0,75 $ЛД_{50}$) в индуктивной (И) и продуктивной (П) фазах иммуногенеза на антителозависимую клеточную цитотоксичность спленоцитов мышей через 5 сут , % (M±m, n=9-12):
* – различие с контролем достоверно – p<0,05.

Мыши в отличие от крыс не чувствительны к иммуносупрессивному действию метоксиэтанола и 2-метоксиуксусной кислоты. Это обусловлено иммунологическими, фармакокинетическими или метаболическими различиями между двумя видами грызунов [Smialowicz R.J. et al. , 1992].

Существующие в настоящее время данные в отношении иммунотоксичности этанола (а также других спиртов) позволяют предполагать, что его супрессируюшее влияние на систему иммунитета обусловлено, по-видимому, реализацией следующих механизмов: мембранотоксическим эффектом, приводящим к изменению характера белково-пептидных взаимодействий и связанному с этим нарушению активности ферментов, проницаемости ионных каналов Т-, В-лимфоцитов и ЕКК; поражением мозговых центров неокортекса, оказывающих влияние на иммуногенез; изменением функции нейромедиаторов; нарушением секреции цитокинов, гормонов и биологически активных аминов (ИЛ-1, ИЛ-2, интерферонов, гистамина, серотонина и др.); нарушением обмена

цАМФ и цГМФ в ИКК [Алиев Н.А., 1991а, 1991б; Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю., 1998].

При остром отравлении этанолом имеет место патология нервной регуляции иммунной системы. Эти механизмы играют существенную роль в формировании постинтоксикационного имммунодефицита. Для алкоголя характерно двойственное воздействие на иммунную систему: с одной стороны, он выступает в качестве мембранотоксического соединения, непосредственно повреждающего структуру и функцию ИКК, а с другой - этанол является дестабилизатором центральных нейроэндокринных регуляторных механизмов иммуногенеза [Крыжановский Е.Н., Евсеев В.А., 1986]. Несомненно, что в формировании иммунодефицита после острого отравления этанолом играет функция ГГАС.

Существуют основания полагать, что при остром действии этанола возникающий дисбаланс между тормозными и стимулирующими медиаторными системами, в первую очередь, ГАМК-, глутамат- и серотонин- и опиатергических систем мозга [Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004] может оказывать влияние на функцию ИКК.

7.4.2. Фармакологическая коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации этанолом

Нами установлено (табл. 7.25), что применение тимогена, Т-активина, имунофана, миелопида и полиоксидония (ПО) в дозе 10 мкг/кг (ежедневно, однократно, в течение 4 сут) после острой интоксикации этанолом увеличивало число АОК к ЭБ, активность ЕКК, АЗКЦ и реакцию ГЗТ по сравнению с показателями при интоксикации ($p<0,05$). При этом они достигали или превышали контрольные значения.

Т а б л и ц а 7.25

Влияние острой интоксикации этанолом (Э) в дозе 1,0 DL50 и фармакологической коррекции на показатели системы иммунитета крыс (M±m; n=7-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ (IgM), 10^3	ЕЦ,%	АЗКЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	29,5±2,3	31,2±3,2	18,2 ± 1,5	27,8±2,0
Э	21,0±1,5*	23,1±2,0*	12,4±1,3*	20,1±2,1*
Э + тимоген	27,0±2,1	26,2±2,5	15,1 ± 1,3	25,2±2,2
Э + Т-активин	26,2±2,0	28,4±2,7	19,1 ± 1,4	28,0±2,3

Э + имунофан	31,2±2,5	32,0±3,0	21,3 ± 1,6	31,7±3,1
Э + миелопид	28,3±2,7	34,4±3,5	23,2±2,4	29,9±2,5
Э + ПО	33,5+3,1	36,0±2,9	20,1±2,1	32,2±3,1

Примечание: * - отличия достоверны ($p<0,05$) по сравнению с контролем.

Таким образом, применение тимогена, Т-активина, имунофана, миелопида и полиоксидония при отравлении этанолом полностью восстанавливало иммунные реакции.

Заключая данный раздел, следует отметить, что острая интоксикация этанолом вызывает супрессию гуморальных и клеточных иммунных реакций. Иммуностимуляторы тимоген, Т-активин, имунофан, миелопид и полиоксидоний восстанавливают параметры системы иммунитета после острого отравления этанолом.

7.5. 1,2- дихлорэтан

7.5.1. Токсикологическая и иммунотоксикологическая характеристика 1,2- дихлорэтана

Дихлорэтан (ДХЭ, 1,2- дихлорэтан, 1,2- этандихлорид, этилендихлорид, 1,2-этилендихлорид, симметричный дихлорэтан). Относится ко второму классу опасности. ДХЭ – бесцветная или слегка желтоватого цвета жидкость со своеобразным запахом, напоминающим хлороформ или этиловый спирт. В воде растворимость низкая (8,69 г/л при 20^0 С), хорошо растворяется в органических растворителях, жирах. В пламени и на горячих поверхностях ДХЭ разлагается с образованием хлористого водорода, фосгена и других хлорсодержащих соединений.

В промышленности и быту дихлорэтан применяется как растворитель лаков и красок, в военном деле – в качестве средства для растворения хлорсодержащих дегазаторов и экстракции отравляющих веществ при их индикации [Нацюк М.В., 1979], в качестве растворителя БОВ – иприта и люизита. Интоксикации ДХЭ возможны при поступлении яда ингаляционным путем, через кожные покровы и желудочно-кишечный тракт. Острые отравления ДХЭ возникают, как правило, в результате нарушения техники безопасности при работе с ним или при ошибочном употреблении яда внутрь в качестве суррогата алкоголя или суицидальными целями.

Смертельные дозы ДХЭ для человека при пероральном приеме находятся в пределах от 20 до 50 мл [Нацюк М.В. и соавт., 1974; Нацюк М.В., 1979; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000]. Описаны случаи смертельного отравления при приеме внутрь даже 50 мл

токсиканта [Бережной Р.В., 1977]. Среди всех случаев острых отравлений органическими растворителями на долю ДХЭ приходится 44% [Тиунов А.Л., 1990а]. Несмотря на относительно небольшую частоту острых интоксикаций данным соединением (до 5%), отравления ДХЭ характеризуются высокой смертностью (32-96%) [Кокаровцева М.Г., 1982; Курашов О.В., Троцевич В.А., 1992], одной из причин которой может являться постинтоксикационное иммунодефицитное состояние, приводящее к инфекционным осложнениям [Забродский П.Ф., 1998, 2002].

По нашим данным, в конце 90-х годов в ВС РФ по сравнению с предшествовавшими пятью годами частота отравлений ДХЭ возросла в 3 раза, а показатель смертельных исходов от отравлений превысил 30%. Данный показатель превосходит частоту смертельных исходов при всех видах отравлений в 2 раза.

Среднелетальные дозы ДХЭ, по данным различных авторов при пероральном введении составляют для собак, крыс и мышей (различных линий) соответственно 2500, 680 –850 и 413 - 489 мг/кг [Ларионов В.Г., Кокаровцева М.Г., 1976; Barsoum G.S., Saad K., 1934; McColister D.D. et al., 1956; Munson A.E et al., 1982]. При ингаляционном поступлении в течение 6 ч CL_{50} для крыс и мышей соответственно составляют 5100 – 6660 и 1060 мг/м^3 [Bonnet P. et al., 1980; Spencer H.C. et al., 1951; Gradiski D. et al., 1978].

Гибель животных наступает при воздействии относительно узкого диапазона концентраций. Так, для крыс разница между LC_{10} (6 ч) и LC_{90} (6 ч) составляет 2800 мг/м^3 [Bonnet P. et al., 1980]. После воздействия ДХЭ на крыс в концентрации 2000 мг/м^3 на протяжении 6 ч гибели животных не наблюдается [Spencer H.C. et al., 1951]. В опытах на мышах также отмечена незначительная разница между LC_{10} (6 ч) и LC_{90} (6 ч), которая составляет 500 мг/м3 [Gradiski D. et al., 1978]. Попадая во внутренние органы организма, ДХЭ, как гидрофобное вещество, быстро исчезает из крови, накапливаясь в тканях, богатых липидами: ЦНС, печени, сальнике, надпочечниках, откуда в течение нескольких дней выводится [Гембицкий Е.В., Бонитенко Ю.Ю., 1983; Dorndorf W., 1975; Yodaiken R.E., Babcock J.R., 1973]. Метаболизм ДХЭ происходит в печени, корковом и мозговом слоях почек, легких, селезенке, эпителии желудочно-кишечного тракта, коже. Биотрансформация ДХЭ в организме протекает весьма интенсивно [Кокаровцева М.Г. , 1982; Курашов О.В., Троцевич В.А., 1992; Gradiski D. et al., 1978]. Так, при внутрибрюшинном введении мышам ДХЭ в дозах 50 и 170 мг/кг через

2 ч наблюдается превращение в метаболиты соответственно 88 и 55% яда [Лужников Е.А. и соавт., 1989; Yllner S., 1977а]. Основными метаболитами ДХЭ являются: хлорэтанол, хлоруксусный альдегид, монохлоруксусная кислота. Данные соединения значительно токсичнее ДХЭ [Лужников Е.А. и соавт., 1985 Yllner S., 1977б].

Начальный этап биотрансформации ДХЭ - дехлорирование происходит при участии цитохром Р-450-зависимых оксидаз [Козлов В.А. и соавт, 1991]. Под воздействием оксидаз смешанной функции (в частности, цитохрома Р-450) происходит биологическое окисление ДХЭ с образованием стабильного электрофильного радикала $ClCH_2$-CH_2-, способного алкилировать биосубстраты и активировать процессы пероксидации. Затем под воздействием глютатион-S-трансфераз проходит реакция конъюгации метаболитов ДХЭ с глютатионом, в результате этого образуются меркаптуровые кислоты, которые и выводятся из организма [Козлов В.А. и соавт, 1991; Inskeep P.B., Guengerich F.P., 1984; Rannug U., 1980; Sundheimer D.W. et al., 1984]. В процессе интоксикации имеют значение не только продукты биотрансформации, но и действие молекулы ДХЭ в целом, которая блокирует активные центры многих ферментов и рецепторов или образует соединения, по структуре напоминающие иприты [Гембицкий Е.В., Бонитенко Ю.Ю.. 1983; Foureman G.L., Reed D.J. , 1985; Schasteen C.S., Reed D.J.. 1983]. Достаточно полные данные о токсикодинимике и токсикокинетике ДХЭ приведены в монографии [Гигиенические критерии окружающей среды. Вып. 62. 1,2-дихлорэтан, Женева, ВОЗ, 1990].

Многочисленными исследованиями установлено, что способ введения ДХЭ в организм не оказывает существенного влияния на распределение его метаболитов по органам и системам. Выявлено, что токсические эффекты при остром пероральном отравлении ДХЭ сходны с теми, которые наблюдаются при остром ингаляционном воздействии, но более выражены. К основным синдромам при отравлении ДХЭ относятся: угнетение ЦНС, гастроэнтерит, нарушение функций печени и почек, сердечно-сосудистой системы [Саватеев Н.В., 1978; Андрюкин А.А.. 1979; Нацюк М.В., 1979; Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998; Савлуков А.И. и соавт., 2004; Shonborn H. et al., 1970; Yodaiken R.E., Babcock J.R., 1973]. Значительные изменения претерпевают свертывающая и противосвертывающая система крови. Отмечается

возрастание времени содержания в крови факторов свертывания тромбоцитов, уменьшение числа эритроцитов [Ларионов В.Г., Кокаровцева М.Г., 1976; Якушева Е.Н.. 1994; Daniel F. et al., 1994; Dorndorf W.. 1975].

При патологоанатомических исследованиях органов умерших в первые сутки интоксикации ДХЭ определяется резкое полнокровие головного мозга и внутренних органов с периваскулярным отеком и кровоизлияниями. Дистрофические изменения в печени и почках мало выражены или не определяются вообще. Во всех случаях, когда смерть наступала через 2 сут и позже, наблюдались выраженные дистрофические изменения в почках, печени и сердечной мышце [Нацюк М.В., 1979; Тиунов А.Л., 1990а; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000].

При воздействии паров ДХЭ на кроликов на протяжении 7,5 - 8,0 месяцев в концентрации 100 мг/м^3 (3 г/сут, 6 г/нед) наблюдалось снижение образования антител к брюшнотифозной вакцине на 80%. Отмечено также двукратное снижение титра антител к ЭБ [Шмутер Л.М., 1976]. При пероральном хроническом отравлении мышей получены аналогичные результаты [Munson A.E. et al., 1982]. Вместе с тем, при хроническом действии низких концентраций хлорированных углеводородов ряда этана отмечено двукратное увеличение уровня антител к эритроцитам барана [Шмутер Л.М., 1977].

Установлено уменьшение числа лейкоцитов на 30% у мышей, получавших ДХЭ в дозе 49 мг/кг в течение 14 сут. При этом не наблюдалось изменений в относительной массе органов. При 90-дневном воздействии ДХЭ выявлена тенденция к уменьшению антителообразующих клеток селезенки, уровня сывороточных антител после иммунизации ЭБ. Не отмечено изменений функции В-клеток, индуцированных липополисахаридом. После 14-суточного отравления у животных, получавших ДХЭ в дозах 4,9 и 49,0 мг/кг, наблюдалось уменьшение числа антителопродуцентов в селезенке соответственно на 25% и 40%. После 90-дневного воздействия ДХЭ не выявлено влияния яда на клеточный иммунитет, который оценивали по выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на ЭБ и по ответу клеток селезенки на митоген Т-клеток конканавалин А. После 14-дневной интоксикации зарегистрировано слабовыраженное подавление ГЗТ, но этот эффект не зависел от дозы [Munson A.E.. et al., 1982].

Описано действие, свидетельствующие о том, что у потомства, полученного у самок крыс с хронической патологией гепатобилиарной

системы (именно данная система является одной из основных мишеней при поражении ДХЭ) наблюдается угнетение спонтанной макрофагальной активности перитонеальных фагоцитов и моноцитов периферической крови [Брюхин Г.В., Грачев А.Ю., 1991]. Отмечается также уменьшение концентрации макрофагов и их аффинности, снижение способности этих клеток поглощать сенсибилизированные ЭБ [Брюхин Г.В., Грачев А.Ю., 1993; Прокопенко Л.Г., Кедровская Н.Н., 1983].

Нами изучалось влияние острой интоксикации ДХЭ на НРО и основные гуморальные и клеточные иммунные реакции [Забродский П.Ф. и соавт., 1997]. Установлено (табл. 7.26), при острой интоксикации ДХЭ происходит существенное увеличение летальности крыс, снижение DL_{50} Полученные данные свидетельствуют о снижении антиинфекционной неспецифической резистентности организма. Следует отметить, что данная экспериментальная модель позволяет судить и о редукции иммунологической резистентности, так как при повторном введении *E.Coli* через 3 сут после иммунизации выживаемость животных обеспечивается не только неспецифическими факторами, но и гуморальными и клеточными иммунными реакциями.

Т а б л и ц а 7.26

Влияние острой интоксикации ДХЭ (0, 75 $ЛД_{50}$) на показатели антиинфекционной неспецифической резистентности крыс (М±m)

Показатели	Контроль	ДХЭ
Летальность, %	12,5±5,1 (40)	32,4±7,5* (37)
$ЛД_{50}$ *E. coli,* 10^9 микробных тел	9,0±1,0 (40)	7,5±1,2* (37)
$ЕД_{50}$, ч	50,0±7,5 (40)	28,2±6,9* (37)
Обсемененность *E. coli* периферической крови, число клеток в 0,05 мл	33,0±9,8 (7)	61,0±5,9* (6)
Число *E. coli* в селезенке, 10^2	50,0±9,8 (10)	112,0±8,9* (10)

Примечание: в скобках - число животных; * - различия с контролем достоверны - р<0,05.

E.Coli и среднеэффективного времени жизни животных. Число *E.coli* в крови и селезенке возрастало соответственно в 1,8 и 2,2 раза.

При острой интоксикации ДХЭ до 3 сут статистически значимо (р<0,05) уменьшались бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) и фагоцитарная активность нейтрофилов, до 6 сут – сывороточное содержание лизоцима и ТКБ (β-лизина). К 12-ым сут значения неспецифических факторов резистентности организма

практически не отличались от контрольных значений.

Снижение иммунологической резистентности организма при острой интоксикации ДХЭ связано с супрессией одной из основных реакций индуктивной фазы иммунного ответа – миграцией КОЕс из костного мозга в селезенку (табл. 7.27). О реализации данного эффекта свидетельствуют данные, показывающие, что эндогенное колониеобразование в селезенке у мышей уменьшилось в 1,8 раз [Забродский П.Ф., Лим В.Г., 2006].

Т а б л и ц а 7.27

Влияние острой интоксикации ДХЭ (0,75 $ЛД_{50}$) на иммунные реакции и содержание α-нафтил-AS-ацетатэстеразо- и α-нафтилбутиратэстеразопозитивных клеток в спленоцитах у мышей линии CBA (M±m; n=9-15)

Показатели	Контроль	ДХЭ
КОЕс	10,4±1,8	5,9±1,2*
АОК к ЭБ, 10^3	27,8±3,2	16,1±2,8*
АОК к Vi-Ag, 10^3	26,5±2,5	20,4±2,2*
АЗКЦ,%	8,8±1,5	5,0±0,9*
ГЗТ,%	37,5±2,1	31,3±1,5*
Эстеразопозитивные спленоциты,%	48,0±3,0	35,0±2,0*

Примечание: * – различия с контролем достоверны – p<0,05.

Под влиянием ДХЭ происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и тимуснезависимому антигенам. Причем более выраженная супрессия антителообразования отмечалась к тимусзависимому антигену - ЭБ (табл. 7.27). Так, полученные результаты показывают, что к ЭБ антителопродукция при действии ДХЭ уменьшалась на 42% (p<0,05), а к Vi-Ag – только на 23% (p>0,05). Острая интоксикация ДХЭ приводит также к существенной редукции АЗКЦ и ГЗТ.

Одним из основных механизмов угнетения тимусзависимого гуморального и клеточного иммунного ответа под влиянием ДХЭ может являться ингибирование ацетилхолинэстеразы и неспецифических эстераз, локализованных преимущественно в Т-клетках [Kutty K.M. et al., 1976; Kullenkampff J. et al., 1977]. О такой возможности свидетельствует установленное нами под влиянием ДХЭ выраженное уменьшение активности α-нафтил-AS-ацетатэстеразы спленоцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 1997]. Необходимо отметить,

что в контрольной группе животных содержание эстеразопозитивных клеток в селезенке приблизительно соответствует расчетному количеству Т-клеток в данном органе (табл. 7.27).

Нельзя исключить, что в формировании постинтоксикационного иммунодефицитного состояния, вызванного ДХЭ, имеют значение уменьшение количества Т-лимфоцитов в лимфоидных органах, а также инактивация эстераз моноцитов и макрофагов. Эти клетки, наряду с Т-лимфоцитами, являются эстеразопозитивными [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. , 1983].

Описано нарушение снижения фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов при остром отравлении ДХЭ. Данные изменения характеризовались снижением содержания в клетках катионных белков через 1,3 и 9 сут после острой интоксикации ДХЭ (1,0 $ЛД_{50}$) соответственно в 1,9; 1,44 и 1,32 раза [Гребенюк А.Н и соавт., 1996]. Кроме кислородзависимых антиинфекционных систем фагоцитоза, спирты, ХУ и продукты их биотрансформации, вероятно, поражают и кислороднезависимые микробицидные системы фагоцитов [Гребенюк А.Н. и соавт., 1998]. В опытах Е.В. Давыдовой и соавт. (2004а, 2004б) показано снижение внутриклеточного содержания катионных белков в нейтрофилах крыс после острой интоксикации ДХЭ в дозе 1,0 $ЛД_{50,}$ а также зарегистрирован феномен аномального гранулогенеза.

Нами в экспериментах ex vivo на спленоцитах неинбредных мышей установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2005] (табл. 7.28), что под влиянием ДХЭ и его метаболитов в прямой зависимости от концентрации происходит снижение эффекта кооперации Т- и В-лимфоцитов, оцениваемого по антителообразованию, связанного с нарушением функции как В-лимфоцитов, так и Т-клеток.

Т а б л и ц а 7.28

Влияние ДХЭ и его метаболитов на кооперацию Т- и В-лимфоцитов мышей in vitro (число АОК на 10^6 В-клеток) [M±m, n=7-8]

Клетки	Концентрация, мМ	ДХЭ	ХЭ	ХУА	ХУК
B^0+T	1	345±30	295±22*	198±20*	148±15*
	10	265±27*	218±16*	120±14*	95±11*
	50	195±18*	135±12*	74±11*	45±5*
B+T^0	1	301±22*	229±21*	154±17*	115±12*
	10	234±24*	161±19*	121±10*	85±7*

	50	160±15*	98±9*	63±8*	67±6*

Примечание: контроль: В-клетки - 70± 8 на 10^6 В-клеток; В+Т - 398±37 на 10^6 В-клеток; $В^0$, $Т^0$ - Т- и В-клетки в течение 1 ч до добавления ЭБ инкубировали со ДХЭ или его метаболитами; *- различие с контролем (В+Т) достоверно – $p<0,05$.

ДХЭ и его метаболиты 2-хлорэтанола (ХЭ), хлоруксусного альдегида (ХУА), хлоруксусной кислоты (ХУК) при концентрациях, составляющих 1 и 10 мМ, оказывали более выраженное воздействие на Т-клетки. Так, при действии ДХЭ, ХЭ, ХУА и ХУК при концентрации 1 мМ активность В-лимфоцитов в эффекте кооперации снижалась соответственно в 1,15 ($p>0,05$); 1,35; 2,01 и 2,69 ($p<0,05$) раза, а Т-лимфоцитов - в 1,32; 1,72; 2,58 и 3,36 раза ($p<0,05$) соответственно. Функция В-клеток в эффекте кооперации при действии ДХЭ, ХЭ, ХУА и ХУК при концентрации 10 мМ уменьшалась соответственно в 1,50; 1,83; 3,32 и 4,19 раза ($p<0,05$), а Т-лимфоцитов - в

1,70; 2,47; 3,29 и 4,68 раза ($p<0,05$) соответственно. Статистически значимое снижение антителообразования, обусловленное нарушением функции В-лимфоцитов в эффекте кооперации при концентрации ДХЭ, ХЭ, ХУА и ХУК, составляющей 50 мМ, отмечалось соответственно в 2,04; 2,95; 5,38 и 8,84 раза ($p<0,05$), а Т-лимфоцитов - в 2,49; 4,06; 6,31 и 6,63 раза ($p<0,05$) соответственно.

При действии ХУК в концентрации, составляющей 50 мМ, снижение антителообразования обусловлено существенным нарушением функции В-клеток, которые не способны к кооперации с Т-лимфоцитами. При этой концентрации нарушается также функция Т-лимфоцитов и при их взаимодействии с интактными В-клетками реализуется антителопродукция, обусловленная только функцией В-лимфоцитов. Следует отметить, что число АОК при инкубации ЭБ только с В-лимфоцитами, статистически значимо не отличающееся от показателя, полученного при инкубации Т-, В-клеток и ЭБ, свидетельствует о практически полном нарушении кооперации лимфоцитов в процессе антителогенеза. Так, о значительном ингибировании кооперации лимфоцитов можно утверждать не только при действии ХУК в концентрации 50 мМ, но и при концентрации данного метаболита, составляющей 10 мМ вследствие поражения как Т-, так и В-клеток, а также при воздействии ХУА в максимальной из использованных концентраций.

Сравнительная оценка действия ДХЭ и его продуктов биотрансформации на кооперацию Т- и В-лимфоцитов in vitro в процессе антителогенеза позволяет заключить, что увеличение их

иммунотоксичности происходит в последовательности: ДХЭ – ХЭ – ХУА – ХУК.

При исследовании функции ЕКК у мышей in vitro под влиянием ДХЭ, ХЭ, ХУА и ХУК установлено (рис. 7.12), что редукция их активности была прямо связана с концентрацией, и в целом в порядке увеличения иммунотоксичности данные соединения располагались в последовательности: ДХЭ, ХЭ, ХУА и ХУК. Так, при концентрации 1 мМ ДХЭ, ХЭ, ХУА и ХУК активность ЕКК статистически достоверно снижалась соответственно в 1,30; 1,71; 2,03 и 3,09 раза, при концентрации 10 мМ - в 2,25; 3,12; 3,21 и 4,92 раза, а при концентрации 50 мМ - в 3,09; 4,37; 5,94 и 7,87 раза соответственно.

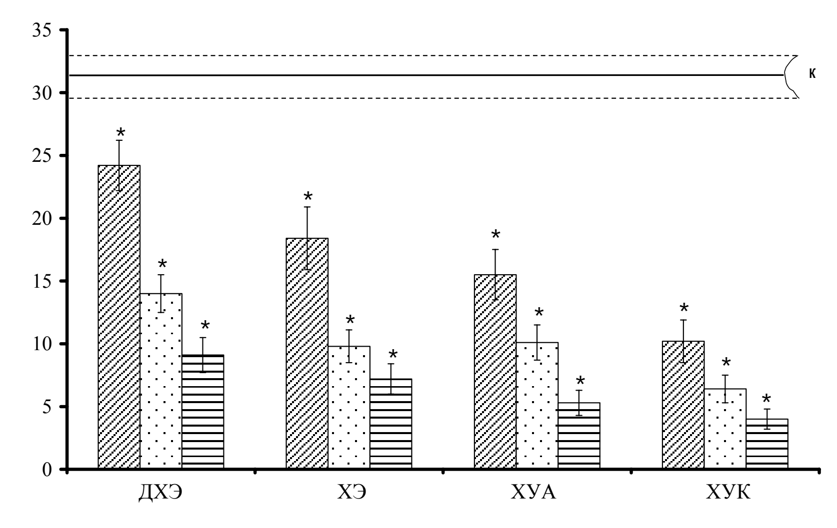


Рис. 7.12. Влияние дихлорэтана и его метаболитов на активность ЕКК (%) у мышей in vitro (M±m, n = 8-11).
Концентрация, мМ: ▨ - 1; ⬚ - 10; ☰ - 50; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Механизм супрессии активности Т- и В- клеток в эффекте кооперации и функции ЕКК, видимо, обусловлен как мембранотоксическим эффектом ДХЭ и его метаболитов [Голиков С.Н. и соавт.,1986], так и взаимодействием с сульфгидрильными, аминогруппами, гидроксильными радикалами ферментов иммуноцитов, их рецепторами и лимфокинами ДХЭ и его высокотоксичных продуктов биотрансформации [Забродский П.Ф.,

1998], ингибирования ими тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях лимфоцитов [Голиков С.Н. и соавт.,1986; Ротенберг Ю.С., 1982]. При этом возможно также уменьшение активации Т- и В-лимфоцитов вследствие снижения синтеза цГМФ, цАМФ и продукции ИЛ-2 Т-клетками [Ройт А. и соавт., 2000; Coffey R. G., Hadden J. W ,1985].

Таким образом, в опытах in vitro редуцирующее действие на кооперацию Т- и В-лимфоцитов, а также активность ЕКК метаболитов ДХЭ существенно превышает действие его неметаболизированной молекулы в эквимолярных концентрациях (1, 10 и 50 мМ). Установленные эффекты прямо связаны с концентрацией исследованных соединений.

7.5.2. Влияние на иммунные реакции сочетанного действия 1,2- дихлорэтана с механической травмой

Групповые и массовые острые отравления ДХЭ в сочетании с тяжелой механической травмой (ТМТ) возможны в процессе уничтожения ТХ, а также при аварийных ситуациях на химических предприятиях. Информация о роли кортикостероидов (КС) в формировании комбинированного постинтоксикационного и посттравматического иммунодефицитного состояния необходима для патогенетического обоснования средств его профилактики и лечения. В связи с этим нами [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Иванов Д.Ю., 2006] определялась роль иммуносупресорного эффекта КС в снижении иммунных реакций при сочетанном остром отравлении ДХЭ и ТМТ.

Под влиянием ДХЭ и ТМТ происходила супрессия исследованных показателей гуморального и клеточного звеньев иммунитета (табл. 7.29).

Таблица 7.29

Влияние острой интоксикации ДХЭ (0,8 $ЛД_{50}$), ТМТ и их сочетания на гуморальные и клеточные иммунные реакции крыс ($M \pm m$, n = 8-11)

Иследованный показатель	Контроль	ДХЭ	ТМТ	ДХЭ+ТМТ
АОК к ЭБ, х 10^3	38,5±3,5	19,2±2,1*	17,0±2,2*	10,2±1,0**
АОК к Vi-Ag, х 10^3	31,1±2,8	20,1±2,0*	18,3±1,9*	11,4±1,2**
Реакция ГЗТ, %	35,2±2,7	20,4±1,8*	23,3±2,4*	13,5±1,7**
ЕЦ, %	29,1±3,3	13,3±2,4*	15,5±3,3*	8,8±1,5**

АЗКЦ, %	13,2±1,8	7,5±1,1*	8,4±1,6*	4,1±0,7**

Примечание: ДХЭ, ТМТ – соответственно 1,2-дихлороэтан, тяжелая механическая травма; * - различия с контролем - p<0,05; ** - различия с контролем и показателями при изолированном действии ДХЭ и ТМТ - p<0,05 .

Сочетанное воздействие ДХЭ и ТМТ в большей степени снижали тимусзависимый гуморальный иммунный ответ, что свидетельствует о редукции синтеза IgM и активности регулирующих этот синтез Th1-лимфоцитах [Pfeifer C. et al., 1991]. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их иммуносупрессивных эффектов.

При определении концентрации кортикостерона в плазме крови крыс при остром отравлении ДХЭ, действии ТМТ и их сочетании установлено (табл.7.30) существенное увеличение его концентрации через 2, 6 и 12 ч. При этом максимальное увеличение концентрации кортикостерона (КС) отмечалось через 2 ч. Так, действие ДХЭ, ТМТ и их сочетания увеличивали концентрацию гормона соответственно в 5,85; 7,06 и 9,83 раза (p<0,05). Через 12 ч концентрации КС при действии исследованных повреждающих факторов существенно не отличались от контрольного значения. Введение КС вызывало увеличение концентрации этого гормона в крови прямо пропорционально его дозе через 2 и 6 ч. При сравнении содержания КС в плазме крови крыс при его экзогенном поступлении в различных дозах после острого отравления ДХЭ, действия ТМТ и их сочетания установлено, что увеличение концентрации гормона под влиянием ДХЭ и ТМТ приблизительно соответствует двухкратному введению этого гормона в дозе 4 мг/кг, а повышение содержания КС в крови при сочетанном действии факторов соответствует двукратному введению этого гормона в дозе 6 мг/кг.

Таблица 7.30

Концентрация кортикостерона (нг/мл) в плазме крови крыс при его подкожном введении, остром отравлении ДХЭ, действии ТМТ и их сочетании (M±m, n = 8-11)

Серии опытов		Время исследования после введения, ч		
		2	6	12
Контроль	1	35,1±5,1	40,2±6,1	38,8±5,9
ДХЭ	2	205,3±17,5	139,0±18,0	40,0±5,2
ТМТ	3	247,8±15,6	162,5±14,0	29,8±5,7
ДХЭ+ТМТ	4	345,0±20,2	238,0±19,6	44,0±5,2
КС, 4 мг/кг х 2	5	245,6±19,0	143,3±16,4	33,3±5,5
КС, 6 мг/кг х 2	6	379,5±25,1	215,2±20,8	31,5±4,0

Уровень достоверности p<0,05	1-2, 1-3, 1-4,1-5; 1-6; 2-4; 2-6; 3-4; 3-6; 5-6	1-2; 1-3; 1-4;1-5; 1-6; 2-4; 2-6; 3-4; 3-6; 5-6	

Примечание: кортикостерон вводили двукратно, с интервалом 2 ч.

Введение КС в дозах 4 и 6 мг/кг с интервалом 2 ч двукратно (табл. 7.31) вызывало снижение тимусзависимого ($p<0,05$) и тимуснезависимого антителообразования ($p<0,05$), а также активности ЕКК и АЗКЦ ($p<0,05$).

Полученные результаты после проведения соответствующих расчетов свидетельствуют о том, что редукция показателей системы иммунитета под влиянием экзогенного КС в концентрациях, соизмеримых с содержанием гормона в крови после действия ДХЭ, ТМТ и их сочетания, в целом меньше, чем при действии химического, физического фактора соответственно в 1,60 раза (на 37,5%) и 1,68 раза (на 40,9%), а их сочетанного эффекта – в 1,20 раза (на 16,6%).

Т а б л и ц а 7.31

Влияние кортикостерона (в дозах 4 и 6 мг/кг двукратно с интервалом 2 ч) на показатели системы иммунитета (M±m, n = 7-9)

Показатели	Контроль	Кортикостерон, мг/кг	
		4	6
АОК к ЭБ, х 10^3	37,4±3,2	27,0±2,5*	19,1±1,2*
АОК к Vi-Ag, х 10^3	29,5±2,6	22,3±2,0*	18,5±1,3*
Реакция ГЗТ, %	36,7±2,9	27,8±2,5*	23,0±1,8*
ЕЦ, %	30,1±3,1	20,8±2,9*	16,5±1,4*
АЗКЦ, %	12,2±1,3	8,3±1,2*	6,5±0,8*

Примечание: * - различия с контролем - $p<0,05$.

Проведенные эксперименты позволяют рассчитать эффект КС, в %, в реализацию супрессии функции любого показателя системы иммунитета при остром отравлении ДХЭ, действии ТМТ (доза КС – 4 мг/кг) и их сочетанном эффекте (доза КС – 6 мг/кг) по формуле:

$$\text{Эффект КС} = (1 - \text{ПИО}_{\text{кс}}/\text{ПИО}_{\text{к}}) \cdot 100,$$

где $\text{ПИО}_{\text{к}}$, $\text{ПИО}_{\text{кс}}$ - показатель иммунного ответа соответственно в контроле и при действии кортикостерона в концентрации, соизмеримой с действием факторов или их сочетания [Забродский П.Ф., 1998].Расчеты показывают, что при действии ДХЭ, ТМТ и их сочетанном влиянии эффект КС, обусловливающий реализацию супрессии тимусзависимого гуморального иммунного ответа (синтеза IgM), составляет соответственно 27,8 и 48,9%. Интегральный эффект

КС в супрессии всех иммунных реакций при действии ДХЭ, ТМТ и их сочетания составляет соответственно 27,9 и 43,6%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о суммации супрессивных эффектов в отношении гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием острого отравления ДХЭ и ТМТ, при этом повышение концентрации в плазме крови кортикостерона под влиянием изолированного действия ДХЭ, ТМТ и их сочетанного эффекта определяет вклад КС в реализацию редукции иммунных реакций, составляющий в среднем соответственно 28 и 44%.

При определении влияния ТМТ в сочетании с воздействием острой интоксикации дихлорэтаном на гуморальные и клеточные иммунные реакции и ПОЛ нами установлено (табл. 7.32) [Забродский П.Ф. и соавт., 2006], что под влиянием острого отравления ДХЭ происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам, оцениваемому по отрицательному двоичному логарифму (ОДЛ) титра антител, соответственно в 1,39 и 1,29 раза ($p<0,05$), а по числу АОК в селезенке – в 2,19 и 1,77 раза соответственно ($p<0,05$).

Т а б л и ц а 7.32

Действие острой интоксикации ДХЭ (0,75 $ЛД_{50}$) в сочетании с тяжелой механической травмой на показатели гуморального иммунного ответа (M±m, n = 9-13)

Факторы		Титр антител к ЭБ, $-log_2$ титра	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АОК к Vi-Ag, $\cdot 10^3$
Контроль	1	5,7±0,2	42,2 ± 4,3	35,1 ± 3,0
ТМТ	2	4,4±0,3	25,8±3,6	24,0±2,6
ДХЭ	3	4,1±0,3	19,3 ± 2,1	19,8 ± 2,2
ДХЭ+ ТМТ	4	3,3±0,2	13,8 ± 1,5	14,1±1,7
Достоверность различий- p<0,05		1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4	1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4	1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4

Действие ТМТ приводило к существенному уменьшению данных параметров, а при сочетанном действии ДХЭ и ТМТ отмечалась суммация их иммуносупрессивных эффектов. Так, ТМТ снижала количество антителообразующих клеток к ЭБ и АОК к Vi-антигену соответственно в 1,63 и 1,46 раза ($p>0,05$), а ее сочетанное действие с ДХЭ вызывало уменьшение данных показателей соответственно в 3,05 и 2,49 раза ($p<0,05$) по сравнению с контролем ($p<0,05$).

Острая интоксикация ДХЭ снижала ЕЦ, АЗКЦ и реакцию ГЗТ по сравнению с контролем соответственно в 1,55; 1,81 и 1,60 раза ($p<0,05$). Действие ТМТ приводило к редукции ЕЦ, АЗКЦ и реакции

ГЗТ соответственно в 1,35; 1,40 и 1,45 раза ($p<0,05$). Действие ТМТ в сочетании с ДХЭ вызывало суммацию супрессии данных параметров. Так, сочетание отравления ДХЭ и ТМТ снижало ЕЦ, АЗКЦ и реакцию ГЗТ по сравнению с контролем соответственно в 2,23; 2,93 и 2,79 раза ($p<0,05$) (табл. 7.33).

Т а б л и ц а 7.33

Сочетанное действие ДХЭ (0,75 $ЛД_{50}$) в сочетании с тяжелой механической травмой на показатели клеточного иммунного ответа (М±m, n = 9-13)

Факторы		ЕЦ, %	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	1	30,3±2,1	16,1± 1,8	38,5±2,9
ТМТ	2	22,3±2,4	11,5±1,3	26,2±2,0
ДХЭ	3	19,5±2,0	8,9±1,1	24,1±2,3
ДХЭ+ ТМТ	4	13,6±1,7	5,5±1,0	14,0±1,8
Достоверность различий-р<0,05		1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4	1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4	1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4

Редукция иммунных реакций под влиянием токсиканта обусловлена действием на иммуноциты и процессы, определяющие их функцию, не только молекул ДХЭ, но и их высокотоксичных продуктов биотрансформации. Известно, что токсический эффект ДХЭ связан преимущественно с действием на мембраны и ферменты клеток различных органов его метаболитов – 2-хлорэтанола, хлоруксусного альдегида и хлоруксусной кислоты [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000]. Суммация иммунотоксического эффекта ДХЭ и иммуносупрессивного действия ТМТ реализуется, видимо, в результате действия яда и его метаболитов, кортикостероидов вследствие стресс-реакции на отравление в сочетании с эффектом этих гормонов после ТМТ [Кулагин В. К., 1978].

Иммуносупрессивный эффект после острой интоксикации ДХЭ сопровождался инициацией ПОЛ (табл. 7.34). Это характеризовалось уменьшением под влиянием ДХЭ активности каталазы и пероксидазы, характеризующей АОС, соответственно в 1,51 и 1,57 раза ($p<0,05$).

Т а б л и ц а 7.34

Влияние сочетанного действия острой интоксикации ДХЭ (0,75 ЛД50) в сочетании с тяжелой механической травмой на показатели перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (М+m, n = 9-13)

Серии опытов		Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	1	230,5±23,1	30,3±3,2	6,22±0,53
ТМТ	2	152,4± 20,2	21,2± 2,7	7,98± 0,56
ДХЭ	3	135,2± 25,0	19,3± 1,9	8,45± 0,55
ДХЭ + ТМТ	4	87,9± 17,4	12,0± 1,4	10,01± 0,60
Достоверность различий–р<0,05		1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4	1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4	1-2; 1-3; 1-4; 2-4: 3-4

Основной продукт ПОЛ МДА при остром отравлении ДХЭ повышался в 1,36 раза (р<0,05). Изменения показателей ПОЛ в крови отражают процесс свободнорадикального окисления липидов как всех клеток организма, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов [Забродский П.Ф., 2002]. Активация ПОЛ под влиянием ДХЭ может являться одним из механизмов, приводящим к формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. После воздействия ТМТ на крыс показатели АОС и связанные с ними ПОЛ через 3 сут существенно изменялись: снижалась активность каталазы и пероксидазы и увеличивалось содержание МДА в крови.

Острое действие ДХЭ в сочетании с ТМТ вызывало суммацию прооксидантных эффектов химического и физического факторов. Так, сочетанное действие ДХЭ и ТМТ приводило к снижению активности каталазы и пероксидазы в 2,62 и 2,52 раза (р<0,05) соответственно. При этом сочетание ДХЭ и ТМТ увеличивало содержание МДА в крови в 1,61 раза (р<0,05). Увеличение ПОЛ ДХЭ в сочетании с ТМТ, возможно, реализуется в результате инициации ПОЛ метаболитами данного соединения и неметаболизированными молекулами ДХЭ в сочетании с высокой концентрацией кортикостероидов, обусловленной эффектом стресс-реакции на действие токсикантов и ТМТ [Кулагин В. К., 1978; Курашов О.В., Троцевич В.А., 1992].

Повреждающий эффект ПОЛ в отношении иммунокомпетентных клеток (ИКК) может быть обусловлен тем, что продукты распада гидроперекисей фосфолипидов взаимодействуют со свободными аминогруппами мембранных белков иммуноцитов, образуя межмолекулярные сшивки и инактивируя эти белки. Кроме того, активация ПОЛ вызывает окисление сульфгидрильных групп ИКК до сульфонов. Это приводит к инактивации мембраносвязанных ферментов и увеличению проницаемости мембран ИКК [Арчаков А.И. , 1993; Геннис Р. , 1997].

Таким образом, воздействие тяжелой механической травмы и острое отравление ДХЭ снижают основные гуморальные (преимущественно Т-зависимый иммунный ответ) и клеточные иммунные реакции и увеличивает ПОЛ. Действие ДХЭ в сочетании с тяжелой механической травмой приводит к суммации их иммуносупрессивных и прооксидантных эффектов.

7.5.3. Фармакологическая коррекция нарушений иммунного ответа при острой интоксикации 1,2-дихлорэтаном в сочетании с механической травмой

Нами установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2006] (табл.7.35), что применение имунофана в течение 4 сут в дозе 10 мкг/кг через 5 сут после отравления ДХЭ восстанавливало Т-зависимое антителообразование, АЗКЦ, активность ЕКК, реакцию ГЗТ.

Применение имунофана после острого отравления ТХВ практически полностью восстанавливало показатели АОС и снижало содержание в крови МДА до контрольного значения (табл.7.36).

Т а б л и ц а 7.35

Влияние имунофана на показатели системы иммунитета у крыс при острой интоксикации (0,75 $ЛД_{50}$) ДХЭ через 6 сут (M±m; n=8-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АЗКЦ, %	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	34,7±3,3	12,1 ± 1,4	28,0±4,1	27,8±2,1
ДХЭ	20,3± 2,8*	6,9±1,3*	15,5±1,5*	19,8±2,0*
ДХЭ+И	35,0±3,2	14,3 ± 1,5	24,0±3,9	29,6±2,3

Примечание: И – имунофан; * -р<0,05 по сравнению с контролем.

Т а б л и ц а 7.36

Влияние имунофана на показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов у крыс после острого отравления ДХЭ (0,75 $ЛД_{50}$) через 5 сут (M±m; n=8-11)

Серии опытов	Каталаза, мкатал/мл	Пероксидаза, Мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	276,4±26,4	55,3±5,8	5,17±0,27
ДХЭ	155,1± 16,2 *	30,2± 3,1 *	6,14± 0,25 *
ДХЭ + И	238,8±25,7	48,1±4,5	5,19±0,22

Примечание: И – имунофан; * – различие с контролем достоверно – р<0,05.

Таким образом, имунофан, вызывая инактивацию свободнорадикальных и перекисных соединений, способствует

восстановлению иммунного статуса после отравления ДХЭ. Фармакологическое действие этого пептидного иммуноксидредуктанта основано на коррекции иммунной, АОС и тесно связанной с ней ПОЛ.

Как уже упоминалось в предыдущем разделе, острое действие ДХЭ в сочетании с ТМТ вызывало суммацию иммуносупрессивного и связанного с ним прооксидантных эффектов данных химического и физического факторов. Применение антидота ДХЭ ацетилцистеина - АЦ (внутрибрюшинно, однократно, в дозе 300 мг/кг через 5-30 мин, после отравления ДХЭ в дозе 1,5 $ЛД_{50}$ и затем ежедневно (однократно) в течение 2 сут в дозе 100 мг/кг) в комбинации с полиоксидонием (ПО) после сочетанного действия ДХЭ и ТМТ вызывало практически полное восстановление показателей системы иммунитета и параметров, характеризующих состояние ПОЛ [Забродский П.Ф. и соавт., 2006]. При этом изолированное действие АЦ лишь незначительно повышало гуморальные, клеточные иммунные реакции и снижало ПОЛ (табл. 7.37). Это доказывается отсутствием достоверных различий показателей ПОЛ при сочетанном действии ДХЭ (1,5 $ЛД_{50}$), ТМТ и АЦ с контролем (при этом ДХЭ в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ в сочетании с ТМТ вызывал существенный прооксидантный эффект – см. табл. 7.34).

Т а б л и ц а 7.37

Влияние комбинированного эффекта ацетилцистеина и полиоксидония на показатели системы иммунитета и АОС после сочетанного действия ДХЭ (1,5 $ЛД_{50}$) и тяжелой механической травмы у крыс ($M \pm m$, n =9-13)

Параметры	Серии опытов		
	Контроль	ДХЭ+ТМТ+АЦ	ДХЭ+ТМТ+АЦ+ПО
АОК к ЭБ, 10^3	42,2±4,3	23,7±2,3*	35,9±3,4
АОК к Vi-Ag, 10^3	35,1±3,0	23,4±2,4*	30,8±3,1
АЗКЦ, %	16,1±1,8	10,2±1,5*	13,2±1,5
ЕЦ,%	30,3±2,1	21,0±2,0*	26,7±2,5
ГЗТ, %	38,5±2,3	29,2±2,2*	33,0±3,3
Каталаза, ммоль/мин/л	230,5±23,1	175,8±21,5	197,6±18,9
Пероксидаза, мкмоль/мин/л	30,3±3,2	23,1±2,3	26,4± 2,4
МДА, нмоль/мл	6,22±0,53	7,65±0,52	6,98±0,50

Примечание: * - различия с контролем достоверны при -$p<0,05$ по сравнению с контролем.

Следует отметить, что при действии ДХЭ в дозе 1,5 $ЛД_{50}$ в

сочетании с травмой и применении ПО отмечалась практически 100% гибель животных.

Таким образом, комбинированное применение ацетилцистеина и полиоксидония после сочетанного действия тяжелой механической травмы и ДХЭ (1,5 $ЛД_{50}$) уменьшает вызванную им супрессию иммунных реакций и инициацию перекисного окисления липидов.

Результаты исследований, изложенные в данном разделе, позволяют заключить, что острая интоксикация ДХЭ вызывает снижение гуморальных и клеточных иммунных реакций. Наиболее чувствительными к действию ДХЭ являются Т-лимфоциты. Основными механизмами нарушения иммунного гомеостаза ДХЭ являются: выраженный иммуносупрессивный эффект метаболитов токсиканта, нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов; инактивация эстераз Т-лимфоцитов, иммуноредуцирующий эффект кортикостероидов и инициация ПОЛ. Полученные результаты свидетельствуют о суммации супрессивных эффектов ДХЭ и тяжелой механической травмы в отношении гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием их сочетанного действия. Имунофан, вызывая инактивацию свободнорадикальных и перекисных соединений, способствует восстановлению иммунного статуса после отравления ДХЭ. Комбинированное применение ацетилцистеина и полиоксидония после сочетанного действия тяжелой механической травмы и ДХЭ (1,5 $ЛД_{50}$) уменьшает вызванную им супрессию иммунных реакций и инициацию перекисного окисления липидов.

7.6. Тетрахлорметан

7.6.1.Токсикологическая характеристика и иммунотоксические свойства тетрахлорметана

Тетрахлорметан (ТХМ, четыреххлористый углерод, перхлорметан, фреон–10, хладон–10) относится к хлорпроизводным метана. Это бесцветная жидкость с ароматическим запахом (сходным с хлороформом). Не воспламеняется. При соприкосновении с пламенем или накаленными предметами разлагается, образуя фосген. Молекулярная масса 153,84, температура кипения 76,8 ^{0}С, температура плавления –23 ^{0}С. Хорошо растворим в жирах. Коэффициент растворимости паров в воде 1,04 (20 ^{0}С), 0,73 (30 ^{0}С). Химическая формула – CCl_4 [Лазарев Н.В., Гадаскина И.Д., 1977;

Тиунов А.Л., 1990а]. Смешивается с большинством органических растворителей. ТХМ практически нерастворим в воде. Хорошо растворяет жиры и масла, канифоль, многие натуральные и синтетические смолы, а также серу, желтый фосфор и галогены. В отсутствии влаги не действует на металлы. При нагревании выше 1000 ^{0}С образуется тетрахлорэтилен и хлор, при неполном гидролизе водяным паром – фосген: $CCl_4 + H_2O = COCl_2 + 2HCl$ [Лазарев Н.В., Гадаскина И.Д., 1977; Тиунов А.Л., 1990].

ТХМ широко используется в промышленности как растворитель масел, жиров, каучука, битумов и смол; для экстрагирования жиров и алкалоидов из костей и семян; при производстве фреонов. Благодаря трудной воспламеняемости и высокой плотности, используется в огнетушителях в тех случаях, когда неприменимо тушение водой (при пожарах нефтепродуктов, на электроустановках и т.д.). Тушение огня ТХМ в закрытом помещении представляет опасность ввиду токсичности его паров и образующихся газов. Используется для чистки и обезжиривания одежды в быту и производственных условиях. В медицине раньше применялся в качестве противоглистного средства. Он эффективен при заражении анкилостомами, аскаридами, острицами, ленточными глистами [Курдыбайло Ф.В. и соавт., 1968; Тиунов А.Л., 1990а].

В настоящее время ТХМ исключен из номенклатуры лекарственных средств в связи с тем, что появились более безопасные и обладающие большей противоглистной активностью препараты [Машковский М.Д., 1993].

Первый случай ингаляционного отравления ТХМ отмечен во Франции в 1938 году. Долгие годы наблюдались преимущественно производственные ингаляционные отравления. Описано много профессиональных отравлений, среди них немало смертельных. Часто наблюдаются отравления на мелких предприятиях, при дегельминтизации животных. Причиной пероральных отравлений часто бывает употребление этого препарата с целью опьянения. Ингаляционные отравления возникают на производстве при несоблюдении правил техники безопасности, в быту при чистке одежды в небольших, плохо проветриваемых помещениях. Возможны отравления при длительном контакте ТХМ с кожей. Случай массового отравления с 20 смертельными исходами описан при употреблении внутрь средства для мытья волос, содержащего 1,4% ТХМ (остальное спирт). ТХМ - один из самых сильных гепатотропных ядов [Курдыбайло Ф.В.и соавт., 1968; Чиркова В.М., 1983; Тиунов Л.А.,

1990а].

В клинической токсикологии отравления ТХМ встречаются довольно часто. Пациенты с данной патологией составляют до 60% всех больных с токсическим поражением печени [Голиков С.Н. и соавт., 1986; Венгеровский А.И. и соавт., 1993]. Летальность при пероральных отравлениях составляет 30%, при ингаляционных – от 15 до 20%. Летальная доза при пероральном поступлении для человека составляет 20 – 40 мл. Вдыхание паров ТХМ в концентрации 15 мг/л через 10 минут, а в концентрации 2 мг/л – через 30 минут приводит к появлению головной боли, тошноты, рвоты, учащению пульса. У рабочих при восьмичасовом воздействии концентрации, составляющей 1,2 мг/л, наблюдается усталость, сонливость. Смертельная концентрация ТХМ для человека равна 50 мг/л при вдыхании в течение 1 ч Для появления симптомов отравления достаточно приема внутрь 2 – 4 мл токсиканта [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989].

При остром отравлении ТХМ поражается ЦНС, желудочно-кишечный тракт, печень и почки, свертывающая система крови, сердечно-сосудистая и дыхательная системы. При действии на кожу ТХМ вызывает дерматиты, иногда экзему, крапивницу. Основная причина смерти больных - острая печеночно-почечная недостаточность и ее осложнения (массивные кровотечения, пневмония). Прием алкоголя способствует более тяжелому течению ингаляционных отравлений [Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982, 1999а; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Чиркова В.М. ,1983; Могуш Г., 1984; Тиунов Л.А., 1990а; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998; Куценко С.А. и соавт., 2004].

Ввиду выраженной липотропности ТХМ быстро всасывается в кровь. В экспериментах на животных наибольшая концентрация яда наблюдается в жировой ткани (примерно в 8 раз больше, чем в крови). Наиболее высокая концентрация ТХМ в крови достигается в течение 2 – 4 часов, а через 6 часов его большая часть переходит в жировую ткань, печень, мозг. При ингаляционных отравлениях токсикокинетические процессы протекают в 2 – 3 раза быстрее. В организме ТХМ частично очень медленно разрушается. Выделяется в течение длительного времени (до 70 дней) через дыхательные пути. В неизмененном виде (до 50-60%) – через почки и кишечник. В почках не концентрируется. ТХМ подвергается метаболическому разложению в мембранах эндоплазматического ретикулума печени при участии Р

– 450- завимых монооксигеназ. В результате происходит образование свободных радикалов (CCl^{+}_{3}; O-O-CCl; HO-OCCCl$_3$; HO-CCl$_3$), из которых высокую активность имеет CCl^{+}_{3}. Свободные радикалы действуют на функциональные группы белков внутриклеточных мембран и ферментов, выполняют роль инициаторов реакции перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в мембранах, ингибируют биосинтез белка, вызывают диссоциацию полисом, рибосом, разрушение РНК. В процессе метаболизма возможно образование хлороформа ($CHCl_3$) и фосгена, которые затем превращаются в оксид углерода, хлористый водород и воду. Метаболизму подвергается 20% от введенной дозы ТХМ [Чиркова В.М., 1983; Тиунов Л.А., 1990а].

При патоморфологическом исследовании обнаруживают тяжелые повреждения печени в виде массивных центролобулярных некрозов и пигментного цирроза, при ингаляционном отравлении некротические изменения менее выражены. Считают, что изменения в печени максимальны в ранние сроки отравления. При более поздней гибели в ткани печени регистрируются регенеративные процессы. Изменения в почках проявляются картиной выделительного нефроза, гидропической дистрофией эпителия извитых канальцев. При ранней гибели эти изменения менее выражены. Характерны множественные кровоизлияния под эпикардом, эндокардом, плеврой, слизистой оболочкой желудочно-кишечного тракта. В случаях быстрой смерти на вскрытии отмечается только кровоизлияния и отек мозга. При гистологическом исследовании – признаки энцефаломиелита, дегенеративные изменения нервных клеток, периферические невриты, неврит зрительного нерва, кровоизлияния, жировая эмболия мозга [Курдыбайло Ф.В.и соавт., 1968; Чиркова В.М., 1983; Тиунов Л.А., 1990а; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000;].

Нами в эксперимнетах на белых крысах установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2005], что под влиянием острой интоксикации ТХМ фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов (ФМАН) существенно снижалась (табл. 7.38).

Т а б л и ц а 7.38

Изменение фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов крыс под влиянием острого отравления ТХМ (0,75 ЛД$_{50}$) через 1-9 сут (M$\pm$m, n=7-10)

Серии опытов	Показатель	Срок наблюдения, сут			
		1	3	6	9

<table>
<tr><td rowspan="4">Контроль (41)</td><td>ФП</td><td colspan="4">27,5±0,8</td></tr>
<tr><td>ФЧ</td><td colspan="4">1,4±0,1</td></tr>
<tr><td>НСТ сп</td><td colspan="4">0,26±0,01</td></tr>
<tr><td>НСТ инд</td><td colspan="4">0,57± 0,02</td></tr>
<tr><td rowspan="4">ТХМ</td><td>ФП</td><td>18,2±1,7*</td><td>21,4±1,8*</td><td>22,0±2,2*</td><td>23,4±2,6</td></tr>
<tr><td>ФЧ</td><td>0,7±0,2*</td><td>0,8±0,2*</td><td>1,2±0,2</td><td>1,3±0,2</td></tr>
<tr><td>НСТ сп</td><td>0,14±0,02*</td><td>0,15±0,02*</td><td>0,20±0,02*</td><td>0,22±0,03</td></tr>
<tr><td>НСТ инд</td><td>0,26 ±0,04*</td><td>0,22 ±0,04*</td><td>0,43± 0,03*</td><td>0,48±0,04</td></tr>
</table>

Примечание: ФП, ФЧ – соответственно фагоцитарный показатель, фагоцитарное число; НСТ – НСТ-тест спонтанный и индуцированный – индекс активности ПЯЛ; в скобках – число крыс; *- $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Действие ТХМ приводило к редукции ФМАН в течение 1-6 сут, причем через 6 сут фагоцитарный индекс, показатели спонтанного и индуцированного НСТ-теста статистически значимо уменьшались до 1,52 раза ($p<0,05$). Практически полное восстановление показателей после действия ТХМ отмечалось через 9 сут после отравления. Следует отметить, что после действия ТХМ отмечалась выраженная тенденция к снижению ФМАН через 9 сут, что обусловлено способностью данного ТХМ к более длительному депонированию в органах, богатых липидами по сравнению с ДХЭ и ТХЭ [Тиунов Л.А., 1990] .

Данные, полученные в НСТ-тесте, свидетельствуют, что действие ТХМ на ФМАН реализуется вследствие взаимодействия токсикантов и их метаболитов с НАДФ·Н и НАДФ$^{+}$. Действие ТХМ может быть также связано с ингибированием ядами и продуктами их биотрансформации ФАД$^{+}$, ФАД·Н, восстановленного и окисленнного убихинона, цитохрома b_{245} лейкоцитов или иными механизмами нарушения функционирования НАДФ·Н-оксидазного комплекса нейтрофилов. Кроме кислородзависимых антиинфекционных систем фагоцитоза, ХУ и их метаболиты, вероятно, поражают и кислороднезависимые микробицидные системы фагоцитов [Гребенюк А.Н. и соавт., 1998].

Нами показано [Забродский П.Ф., Лим В.Г. и соавт., 2005], что под влиянием острого отравления ТХМ происходила более выраженная супрессия Т-зависимого гуморального иммунного ответа (на ЭБ) по сравнению с Т-независимой гуморальной иммунной реакцией (на Vi-Ag). Острое воздействие ТХМ вызывало также снижение активности ЕКК, К-клеток и формирования ГЗТ. Так, ТХМ уменьшал число АОК к ЭБ соответственно в 2,10 раза, АОК к Vi-Ag – в 1,67 раза соответственно, ЕЦ – соответственно в 2,17 раза, АЗКЦ – в 1,84 раза, а ГЗТ – в 2,02 (табл. 7.39). В целом редукция показателей системы

иммунитета при действии ТХМ составляла по сравнению с контролем соответственно 50,0%.

Т а б л и ц а 7.39

Влияние острого отравления ТХМ (0,75 $ЛД_{50}$) на гуморальные и клеточные иммунные реакции крыс (М$\pm$m, n=8-9)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	34,3$\pm$3,7	28,7$\pm$2,9	28,2$\pm$2,7	17,1$\pm$2,0	31,5$\pm$3,3
ТХМ	16,3$\pm$2,1*	17,2$\pm$2,2*	13,0$\pm$ 1,9*	9,3$\pm$1,4*	15,6$\pm$1,7*

Примечание: *- р<0,05 по сравнению с контролем.

Снижение Т-зависимого антителообразования, редукция активности ЕКК и АЗКЦ могут быть связаны с инактивацией ацетилхолинэстеразы и других эстераз Т-лимфоцитов и, возможно, ЕКК и К-клеток [Забродский П.Ф. и соавт, 1997], а также ингибированием различных энзимов иммуноцитов продуктами метаболизма ТХМ (треххлористым и двуххлористым углеродом, хлором, фосгеном, окисью углерода, радикалами О–О–СС1, НО–О–$СС1_3$, НО–$СС1_3$ [Тиунов Л.А., 1990]. Менее выраженная супрессия Т-независимой антителопродукции, вероятно, обусловлена практически полным отсутствием в В-лимфоцитах эстераз [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983], а также действием ТХМ и его метаболитов только на В-клетки в отличие от Т-зависимой гуморальной иммунной реакции, в которой ХУ и их продукты биотрансформации взаимодействуют с макрофагами, Т- и В-лимфоцитами [Ройт А. и соавт. 2000].

Иммуносупрессивный эффект ТХМ сопровождался активацией ПОЛ (табл. 7.40). Это характеризовалось уменьшением под влиянием ТХМ активности каталазы, характеризующей АОС, в 1,96 раза (р<0,05), и пероксидазы - 2,26 раза (р<0,05). Содержание основного продукта ПОЛ МДА при остром отравлении ТХМ повышалось в 1,48 раза (р<0,05). Изменения показателей ПОЛ в крови отражают процесс свободнорадикального окисления липидов как всех клеток организма, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов [Забродский П.Ф., 1998; 2002]. Нельзя исключить роль ПОЛ в редукции ФМАН.

Т а б л и ц а 7.40

Действие острой интоксикации ТХМ (0,75 $ЛД_{50}$) на показатели

перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (M±m, n=8-9)

Серии опытов	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	264,5±27,5	45,4±4,3	5,57±0,30
Тетрахлорметан	134,7± 20,7*	20,1± 2,0*	8,25± 0,34*

Примечание: *- p<0,05 по сравнению с контролем.

Активация ХУ ПОЛ мембран иммуноцитов (и нейтрофилов) может быть связана с прямым окислением SH-групп в активных центрах мембраносвязанных ферментов, образованием внутри- и межмолекулярных "сшивок". Гидроперекиси липидов способны также трансформировать активность ряда ферментов, например моноаминооксидазы с моноаминов на другие амины, а МДА, видимо, может образовывать ковалентные связи со многими амидами имуноцитов [Арчаков А.И., 1993].

Выраженная активация ПОЛ под влиянием ТХМ объясняется высокой активностью радикалов данного соединения, образующихся при его метаболизме [Тиунов Л.А., 1990]. Так, доказано, что свободный радикал CCl^{+}_{3} взаимодействует с субклеточными структурами двумя путями. Во-первых, он непосредственно повреждает ферментные системы. Во вторых, свободный радикал CCl^{+}_{3} оказывает так называемое прооксидантное действие, то есть является фактором, включающим цепную реакцию переокисления липидов. Первичным объектом такого прооксидазного действия радикала CCl^{+}_{3} являются ненасыщенные жирные кислоты внутриклеточных мембран (олеиновая, линолевая, линолиновая, арахидоновая), которые в свою очередь образуют свободный радикал как результат акта одноэлектронного окисления (отрыв атома водорода от реагирующей цепи). Образуются радикалы (RO^{+}_{2}) и гидроперекиси (ROOH) жирных кислот, что приводит к структурной и функциональной перестройке мембран. В результате увеличивается проницаемость мембран для ионов H^{+}, K^{+}, Na^{+}, Ca^{2+} с последующим пространственным разобщением окислительных цепей [Меерсон Ф.З.. 1984; Плужников Н.Н. и соавт., 2003а]. Наконец, разрывается мембрана с выходом внутриклеточных протеолитических ферментов, и клетка погибает [Лужников Е.А., 1999]. На наш взгляд, это в полной мере можно отнести к ММФ-системе и лимфоцитам. Процесс этот носит специфический характер только в самом начале - на стадии образования радикала CCl^{+}_{3}, который запускает всю цепь. Весь механизм переоксидации липидов как цепной реакции, однажды

индуцированной, является неспецифическим. Это обычный стандартный путь повреждения внутриклеточных мембран, которым завершается любая патология, любое острое отравление ксенобиотиками, ведущие к истощению антиоксидантных систем организма. Доказано повреждение ТХМ мембраны лизосом клеток, не связанного с ПОЛ, и последующее высвобождение и активация кислых гидролаз [Ахматова М.А. и др., 1982].

При вычислении коэффициентов корреляции между числом АОК к ЭБ, реакцией ГЗТ при остром отравлении ТХМ и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс установлено, что они составляли от 0,711 до 0,771 ($p<0,05$). Коэффициенты корреляции при действии ТХМ между числом АОК к ЭБ, ГЗТ и содержанием МДА в крови составляли от -0,697 до -0,734 ($p<0,05$).

Таким образом, инициация ПОЛ под влиянием ТХМ является одним из факторов, способствующих формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. Иммунотоксичность ТХМ может быть обусловлена не только выявленными изменениями ПОЛ. Механизмами снижения функции иммуноцитов под влиянием ТХМ могут являться повреждение генома иммуноцитов, ингибирование их различных энзимов, в частности цитохрома Р-450, ферментов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, нейроэндокринные нарушения и др. Следует отметить, что инактивация и даже деструкция энзимов нейтрофилов и иммуноцитов может являться следствием ПОЛ [Забродский П.Ф., 1998; 2002].

Таким образом, активация ПОЛ под влиянием ТХМ является одним из факторов, способствующих формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния.

Нами показано (рис. 7.13), что острое отравление ТХМ вызывало статистически значимое уменьшение активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т-лимфоцитах тимуса в 1,49 раза ($p<0,05$). В Т-клетках селезенки активность АХЭ снижалась под влиянием ТХМ в 1,30 раза ($p<0,05$).

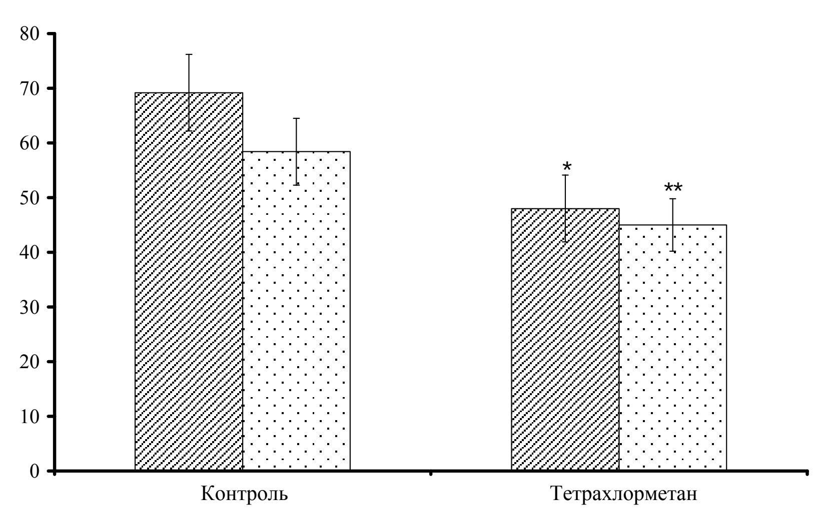


Рис. 7.13. Влияние острого отравления ТХМ (0,75 $ЛД_{50}$) на активность активность ацетилхолинэстеразы в Т- лимфоцитах тимуса и селезенки у крыс (мЕд/10^9) через 3 сут (M±m; n=7-8):
▨ - тимус; ⛶ - селезенка; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Несомненно, что ингибирование ацетилхолинэстеразы ТХМ имеет существенное значение в формировании постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. При этом Т-лимфоциты, возможно, существенно утрачивают свои функции, что приводит к редукции Т-зависимого гуморального иммунного ответа, снижению цитотоксической активности Т-клеток. По-видимому, функция К-клеток (АЗКЦ) и ЕКК при интоксикации ТХМ также снижается вследствие ингибирования ацетилхолинэстеразы [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983].

Данные литературы свидетельствуют, что инактивация эстераз в моноцитах, цитотоксических Т-лимфоцитах, интактных и активированных лимфокинами ЕКК ксенобиотиками, в частности ФОС, ослабляет иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые данными видами клеток. Развитие лимфомы часто связано с присутствием вируса Эпштейна-Барра и человеческого герпесвируса-6, иммунитет к которым зависит от функции моноцитов, Т-лимфоцитов и ЕКК. Выдвигается гипотеза, что торможение активности эстераз иммунокомпетентных клеток, вызываемое токсикантами (например, ФОС), ослабляет процесс эстеразозависимой

детоксикации, в результате чего способствует развитию процесса лимфомогенеза. Кроме того, снижение активности эстераз подавляет иммунитет к таким патогенам, способствующим развитию лимфом, как герпесвирусы [Newcombe D.S., 1991]. Учитывая изложенное предположение, можно считать, что кроме ФОС ТХМ, обладающий антихолинэстеразным эффектом, способен вызывать лимфомы вследствие их способности ингибировать эстеразы Т-клеток.

Коэффициент корреляции между активностью ацетилхолинэстеразы в Т- лимфоцитах тимуса крыс и АОК к ЭБ, реакцией ГЗТ при остром отравлении крыс ТХТ составляли соответственно 0,749 (p<0,05) [n=9] и 0,781 (p<0,05) [n=9].

Таким образом, постинтоксикационное иммунодефицитоное состояние, вызванное острым действием ТХМ, прямо связано с его антихолинэстеразным эффектом.

Описано, что под влиянием острого отравления ТХМ in vitro при концентрации 3 мМ происходит подавление гуморального иммунного ответа на ЭБ, динитрофиколл и липополисахарид [Kaminski N. E., Stevens W.D.,1992]. Отмечается снижение активности В-лимфоцитов и угнетение супрессорной функции Т-лимфоцитов [Брызгина Т.М. и соавт., 1990]. Под влиянием ТХМ наблюдают угнетение функции В-клеток, особенно в ранние сроки после поражения, вследствие чего снижается их способность к кооперации с Т-клетками. Это приводит к снижению иммунного ответа на тимусзависимый антиген ЭБ [Ильичевич Н.В. и соавт., 1984; Брызгина Т.М., 1989]. Аналогичные данные (снижение в несколько раз числа АОК в селезенке мышей) получены при остром токсическом гепатите, вызванном введением животным ТХМ [Хабибуллаев Б.Б., 2005].

Изменение гуморального иммунитета на тимусзависимый антиген ЭБ у кроликов и мышей в условиях острого поражения печени ТХМ в значительной степени обусловлено активностью иммунорегуляторных клеток – антигеннеспецифических хелперов и супрессоров. Активность клеток-супрессоров проявляется вследствие того, что они вырабатывают супрессорный фактор, который неспецифически подавляет тимусзависимый иммунный ответ [Конопля А.И. и соавт., 1985; Прокопенко Л.Г., 1985; Борисов В.А., 1990; Смахтин М.Ю. и соавт., 1994; 1995].

При остром отравлении ТХМ усиление хелперной активности характерно для периодов большего повреждения печени и менее выраженной регенерации, а усиление супрессорной – для периодов интенсивной регенерации и меньшего повреждения печени

[Прокопенко Л.Г. и соавт., 1987; Мартынова Т.В. и соавт., 1991]. По всей вероятности поражение печени, с одной стороны, создает предпосылки для активации иммунного ответа на различные антигены, с другой – активация иммунного ответа может свидетельствовать о запуске аутоиммунных механизмов повреждения печени. У потомства крыс с хроническим аутоиммунным повреждением печени отмечалось повышение иммунологической реактивности, о чем свидетельствовало увеличение в их селезенках Ig M, продуцирующих антителообразующие клетки [Прокопенко Л.Г. и соавт., 1982, 1983; Прокопенко Л.Г., Кедровская Н.Н., 1983; Брюхин Г.В., Михайлова Г.И., 1990].

При хроническом действии ТХМ нарушение функции иммунной системы связывают с изменениями содержания фосфолипидов (ФЛ) и гликолипидов (ГЛ) в тканях печени и органах системы иммунитета. При этом регистрировалось изменение фракций ФЛ и ГЛ на мембранах гепатоцитов, клеток селезенки, тимуса и костного мозга [Холмухамедова Н.М. и соавт., 1991]. Введение крысам ТХМ вызывало снижение функциональной активности Т-лимфоцитов крови в реакции бласттрансформации в ответ на ФГА, особенно в ранние сроки исследования [Брызгина Т.М., Мартынова Т.В., 1985]. Аналогичные результаты получены в более поздних исследованиях, где показано, что содержание Т-лимфоцитов в селезенке и лимфоузлах (после введения ТХМ крысам) уменьшалось, а содержание В-лимфоцитов не изменялось [Брызгина Т.М. и соавт., 1990]. Дальнейшие исследования показали, что под влиянием ТХМ наблюдается увеличение активности как Т-хелперов, так Т-супрессоров, причем активность последних была выше [Брызгина Т.М. и соавт., 1992]. Показано снижение ГЗТ под влиянием ТХМ [Брюхин Г.В., Михайлов Г.И., 1990]. Потомство крыс с хроническим поражением печени ТХМ характеризовалось депрессией клеточного иммунитета, проявлявшейся уменьшением количества Т-клеток ГЗТ, а также редукцией антителообразования и снижением интенсивности Fc-зависимого фагоцитоза перитониальных макрофагов и моноцитов крови [Брюхин Г.В., Михайлова Г.И., 1990; Брюхин Г.В., Грачев А.Ю., 1991; Брызгина Т.М. и соавт., 1992].

Кратковременное действие ТХМ оказывало стимулирующий эффект на фагоцитоз лейкоцитов и активацию естественных клеток-киллеров, тогда как продолжительное введение обусловливало противоположное действие [Halaskova M. et al., 1993]. Влияние ТХМ на факторы НРО практически не изучено.

Показано, что при действии тетрахлорметана и высокой внешней температуры (40 ^{o}С по 40 мин ежедневно в течение 3 сут) отмечается выраженное снижение Т-зависимого иммунного ответа [Конопля Е.Н., Прокопенко Л.Г., 1994]. Комбинированное действие этанола и ТХМ вызывало суммацию иммуносупрессивных эффектов ядов [Смахтин М.Ю. и соавт., 1994].

Интересно отметить, что витамин С предохраняет от действия ТХМ [Ademuyiva O. et al., 1994], а витамин А вызывает усиление его токсического эффекта. Однако имеются данные, вызывающие сомнение в таком выводе. Так, экстракт из моркови обладает гепатопротективными свойствами при окислительном стрессе, вызванном ТХМ [Bishayee A., Chatterjee M., 1993]. Вероятно, у β-каротина и витамина А при поражении ТХМ реализуются противоположные эффекты. При острых интоксикациях ТХМ в опытах на мышах показано иммуностимулирующее действие лейкинферона [Кузнецов В.П. и соавт., 1992].

Существуют основания считать, что в супрессиии иммуногенеза при отравлении ТХМ определенную роль играет нарушение АКТГ-продуцирующей функции гипофиза, приводящее к увеличению массы надпочечников [Брюхин Г.В., Пивель Г.В., 1993].

Данные, полученные А.И. Венгеровским и соавт. (2004), свидетельствуют о снижении числа лимфоцитов в тимусе, увеличению их в селезенке, активации гуморального иммунного ответа, оцениваемого по числу АОК в селезенке крыс и содержанию в крови IgM и IgG под влиянием ТХМ, который вводили внутрижелудочно крысам в дозе 2 мг/кг (приблизительно 1/3 $ЛД_{50}$) 2 раза в неделю в течение 1 месяца. На наш взгляд, активация антителообразования при столь высоких дозах ТХМ мало вероятна и противоречит данным, полученным другими исследователями.

Таким образом, при остром отравлении ТХМ нарушение механизмов регуляции доиммунной резистентности организма и иммунного гомеостаза приводит к снижению устойчивости животных к экспериментальной инфекции, редукции фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов, супрессии Т-зависимого и Т-независимого гуморального иммунного ответа, активности Т-клеток, естественных клеток-киллеров, АЗКЦ. В механизме поражения системы иммунитета при отравлении ТХМ существенную роль играет постинтоксикационная активация ГГАС, инициация ПОЛ и ингибирование эстераз Т-лимфоцитов.

7.6.2. Фармакологическая коррекция нарушений иммунного гомеостаза при острой интоксикации тетрахлорметаном

Нами показано [Забродский П.Ф. и соавт., 2006], что в целом редукция гуморальных и клеточных иммунных реакций при действии ТХМ составляет по сравнению с контролем 50%. Применение имунофана в течение 4 сут в дозе 10 мкг/кг через 5 сут после отравления приводило к практически полному восстановлению показателей системы иммунитета. Так, препарат вызывал увеличение числа АОК к ЭБ по сравнению с параметром при интоксикации ТХМ в 1,91 раза, АОК к Vi-Ag – в 1,41 раза, ЕЦ – в 1,38 раза, АЗКЦ – в 1,74 раза, а ГЗТ – в 1,94 раза (табл. 7.41).

Т а б л и ц а 7.41

Влияние имунофана на гуморальные и клеточные иммунные реакции крыс при острых отравлениях тетрахлорметаном (0,75 $ЛД_{50}$) ($M \pm m$; n=8-9)

Вещества	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	34,3±3,7	28,7±2,9	28,2±2,7	17,1±2,0	31,5±3,3
ТХМ	16,3±2,1*	17,2±2,2*	18,6± 2,0*	9,3±1,4*	15,6±1,7*
ТХМ+И	31,2±3,3	24,3±2,4	25,7±2,7	16,2±1,6	30,3±2,9

Примечание: И – имунофан; * -$p<0,05$ по сравнению с контролем.

Вероятно, имунофан, обладая иммуностимулирующими и детоксицирующими свойствами, увеличивает Т-зависимое антителообразование, активность ЕКК и АЗКЦ после отравления ТХМ вследствие снижения инактивации токсикантами ацетилхолинэстеразы и других эстераз Т-лимфоцитов, ЕКК и К-клеток, а также в результате уменьшения ингибирования различных энзимов иммуноцитов, в частности, В-клеток, продуктами метаболизма ТХМ (треххлористым и двуххлористым углеродом, хлором, фосгеном, окисью углерода, радикалами О–О–СС1, НО–О–$СС1_3$, НО–$СС1_3$).

Использование имунофана после острого действия ТХМ вызывало повышение по сравнению с показателем при интоксикации активности каталазы, характеризующей АОС, в 1,77 раза ($p<0,05$), и пероксидазы - в 1,95 раза ($p<0,05$) (табл. 7.42). Содержание основного продукта ПОЛ МДА имунофан после острого отравления ТХМ снижал по сравнению с показателем при интоксикации в 1,37 раза ($p<0,05$). Полученные результаты свидетельствуют, что применение имунофана после острого отравления ТХМ практически полностью

восстанавливает показатели АОС и снижает содержание в крови МДА до контрольного значения.

Т а б л и ц а 7.42

Действие острой интоксикации хлорированными углеводородами (0,75 ЛД$_{50}$) на показатели перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (M±m; n=8-9)

Вещества	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	264,5±27,5	45,4±4,3	5,57±0,30
ТХМ	134,7± 20,7*	20,1± 2,0*	8,25± 0,34*
ТХМ+И	238,3±26,4	39,3±4,0	6,02±0,32

Примечание: И – имунофан; * -р<0,05 по сравнению с контролем.

Имунофан после острого действия ТХМ, оказывая антиоксидантное действие, вероятно, существенно снижает окисление SH-групп в активных центрах мембраносвязанных ферментов, способность гидроперекисей липидов трансформировать активность ряда энзимов иммуноцитов (например, моноаминооксидазы с моноаминов на другие амины), образование ковалентных связей МДА с амино- и другими группами лимфоцитов.

Таким образом, иммуностимулирующий эффект имунофана может быть обусловлен его антиоксидантным действием, либо данным эффектом в сочетании с иммуностимулирующим действием в отношении Т-, В-лимфоцитов, а также ЕКК и К-клеток, определяющих АЗКЦ.

7.7. Трихлорэтилен

7.7.1. Токсикологические и иммунотоксические свойства трихлорэтилена

Трихлорэтилен (ТХЭ) применяется в промышленности в качестве растворителя жиров, смол, каучука для очистки металлических деталей и изделий, для химической чистки одежды, как наркотическое средство для рауш-наркоза (в стоматологической практике). В последнее время за рубежом ТХЭ стал популярным средством для достижения наркотического эффекта [Иванова В.А., 1990; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000].

ТХЭ – бесцветная летучая жидкость с ароматическим запахом (запахом хлороформа может поступать в организм через

пищеварительный тракт, дыхательные пути, оказывает психотропное наркотическое действие. В 100 г ТХЭ при 25 ^{0}С растворяется 22 мг воды. С водой образует азеотропную смесь, температура кипения которой составляет 73,6 ^{0}С, содержание воды в смеси – 5,4%. Токсикант не горюч. Температура самовоспламенения составляет 416 ^{0}С [Тиунов Л.А., 1990б].

Особую опасность ТХЭ может представлять на производстве при аварийных ситуациях, когда вследствие его высокой летучести ингаляционным отравлениям может подвергнуться большое число людей.

Среднелетальные дозы по данным различных авторов при пероральном введении составляют для собак, крыс и мышей соответственно 5680, 4920 и 2400 - 2850 мг/кг. При ингаляционном поступлении CL_{50} для крыс и мышей соответственно составляет 140700 (1 ч) и 40000 - 45100 мг/м^3 (4 ч) [Trichloroetylene, 1985]. Смертельная доза для человека при пероральном поступлении яда составляет 7 г/кг. Смертельные исходы наблюдались вследствие отравления фосгеном, образовавшимся из ТХЭ при тушении пожаров. Острые отравления ТХЭ сопровождаются нарушением функции центральной нервной системы, сердечно-сосудистой, дыхательной систем, желудочно-кишечного тракта. Смертность при тяжелых отравлениях может быть связана с формированием вторичного иммунодефицитного состояния [Тиунов Л.А., 1990б; Забродский П.Ф., 1998, 2002].

Метаболизируется ТХЭ преимущественно в печени при помощи Р-450- зависимых монооксигеназ с образованием более токсичных метаболитов, многие из которых токсичнее ТХЭ. Биотрансформация ТХЭ происходит с образованием дихлорацетилхлорида, дихлоруксусной кислоты, трихлорацетальдегида, трихлоруксусной кислоты, трихлорэтанола, N-(гидроксиацетил) этаноламина, трихлорэтандиола, щавелевой кислоты. Метаболиты преимущественно выводятся с мочой [Тиунов Л.А., 1990б].

В отношении индукции монооксигеназных энзимов (Р-450-зависимых монооксигеназ) данные противоречивы, отмечали как их активацию [Тиунов Л.А., 1990б], так и ингибирование (при оценке времени гексеналового сна у крыс) [Сидорин Г.И. и соавт., 2004].

У животных при хроническом воздействии ТХЭ отмечается изменение белковых фракций в крови, угнетается образование антител, снижается фагоцитарная активность ПЯЛ [Тиунов Л.А., 1990б]. При трехкратном введении ТХЭ в дозе 1,5 г/кг увеличивается

содержание адреналина в крови и сердечной мышце, инициируется ПОЛ (увеличивается содержание в крови малонового диальдегида) [Сидорин Г.И. и соавт., 2004].

Проведенные нами опыты показали (табл.7.43), что острое отравление ТХЭ приводит к увеличению летальности мышей от экспериментальной инфекции, уменьшению $ЛД_{50}$ *Proteus vulgaris* и среднеэффективного времени жизни – Et_{50}. Через 48 ч после введения крысам ТХЭ в дозе 0,75 LD_{50} без моделирования экспериментального инфекции погибло 2 из 26 крыс животных. Этот уровень летальности практически не влияет на выявленные нами изменения выживаемости животных от экспериментальной инфекции после острого отравления спиртами ТХЭ.

Т а б л и ц а 7.43

Влияние острого отравления ТХЭ в дозе 0,75 DL_{50} на летальность крыс от экспериментальной пневмонии (*Proteus vulgaris*), DL_{50} *Proteus vulgaris* и Et_{50} (M±m)

Токсиканты	Летальность, %	$ЛД_{50}$Proteus *vulgaris,* 10^9 микр. тел	Et_{50}
Контроль	20,0±5,2 (60)	2,21±0,07 (60)	18,1±1,1 (60)
Трихлорэтилен (без введения *Proteus vulgaris*)	7,7±5,2 (26)	–	–
Трихлорэтилен	44,4±11,7 (18)	1,70±0,16* (18)	13,1±2,3* (18)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно $p<0,05$.

Увеличение летальности от экспериментальной инфекции через 2 сут после острой интоксикации ТХЭ может быть связано с редукцией факторов, определяющих доиммунные механизмы защиты [Гребенюк А.Н. и соавт., 1998; Забродский П. Ф., 2002]. Изменения интегрального состояния НРО под влиянием ТХЭ, вероятно, обусловлены ингибированием многочисленных энзимов, в том числе, эстераз клеток крови [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983; Забродский П.Ф. и соавт., 1997] как самим токсикантом, так и его метаболитами (дихлорацетилхлорида, дихлоруксусной кислоты, трихлорацетальдегида, трихлоруксусной кислоты, трихлорэтанола, трихлорэтандиола, щавелевой кислоты) [Тиунов Л.А., 1990б].

Нельзя исключить, что помимо ингибирования эстераз макрофагов, моноцитов, редукцию НРО, обусловленную снижением процессов тканевого дыхания вследствие взаимодействия ТХЭ и продуктов его биотрасформации с ферментами тканевого дыхания митохондрий клеток крови [Ротенберг Ю.С., 1982; Забродский П. Ф., 1998; Parry

M.F., Wallach M.D., 1974; Jackson I. C. et al., 1986; Gabon P.A. et al., 1986] и уменьшением окислительного фосфорилирования (синтеза АТФ) [Голиков С.Н. и соавт., 1986] в ПЯЛ и других клетках организма, обеспечивающих НРО. Это приводит к снижению устойчивости тканей, в частности тканей легких, к развитию воспаления и сепсису.

Существую основания считать, что выявленное увеличение летальности и сопряженное с ней уменьшение $ЛД_{50}$ *Proteus vulgaris* и Et_{50}, свидетельствующие о снижении антиинфекционной НРО под влиянием острого отравления спиртами и ХУ могут быть обусловлены редукцией основных гуморальных и клеточных факторов неспецифической защиты организма, связанной с мембранотоксическим действием ядов [Голиков С.Н. и соавт., 1986].

Следует учитывать, что на устойчивость животных к инфекции оказывают влияние симпатический и парасимпатический отделы вегетативной нервной системы, функциональное состояние ГГАС [Забродский П.Ф., 1995; Забродский П.Ф. и соавт., 2003; Петрусенко Г.П., Тумилович М.К., 2004; Madden K.S et al., 1991; Rinner I. et al., 1995].

Таким образом, под влиянием метанола, этилегликоля, этанола, дихлорэтана, тетрахлорметана и трихлорэтилена происходят однотипные изменения интегральной антиинфекционной НРО, выраженные в ее снижении.

Нами в экспериментах на неинбредных крысах при введении ТХЭ per os в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ установлено (табл. 7.44), что под влиянием острого отравления токсикантом происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и тимуснезависимому антигенам у крыс соответственно в 1,96 и 1,31 раза ($p<0,05$). Острая интоксикация ТХЭ снижала АЗКЦ, ЕЦ и реакцию ГЗТ соответственно в 1,80; 1,72 и 1,54 раза ($p<0,05$).

Таблица 7.44

Влияние острого отравления ТХМ (0,75 $ЛД_{50}$) на иммунные реакции у крыс (M±m, n =9)

Показатель	Контроль	ТХЭ
АОК к ЭБ, 10^3	42,3 ± 3,3	21,5 ± 2,1*
АОК к Vi-Ag, 10^3	33,1 ± 2,5	25,3 ± 2,4 *
АЗКЦ, %	13,0 ± 1,4	7,2 ± 1,6*
ЕЦ,%	26,4±3,8	15,3±3,0*
ГЗТ, %	30,3± 3,1	19,7± 2,4

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Редукция показателей системы иммунитета под влиянием ТХЭ, вероятно, обусловлено действием как ТХЭ, так и его метаболитов – трихлоруксусной кислоты и трихлорэтанола [Тиунов Н.А., 1990б]. Иммуносупрессивный эффект ТХЭ связан с активацией перекисного окисления липидов и ингибированием эстераз Т-клеток [Забродский П.Ф. и соавт, 2004].

Проведенные нами [Забродский П.Ф., Лим В.Г. и соавт., 2005] опыты показали (рис. 7.14), что под влиянием ТХЭ активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т- лимфоцитах тимуса и селезенки у крыс через 3 сут существенно снижается.

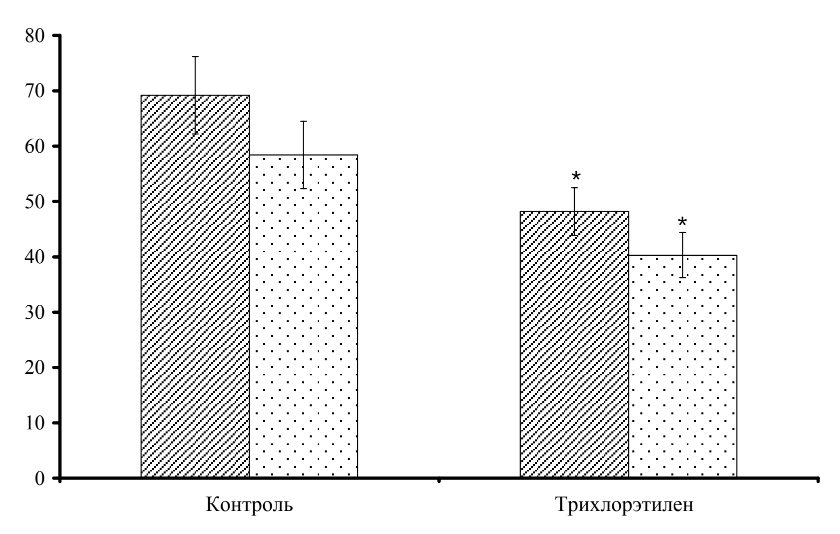


Рис. 7.14. Влияние острого отравления ТХЭ (0,75 $ЛД_{50}$) на активность активность ацетилхолинэстеразы в Т- лимфоцитах тимуса и селезенки у крыс (мЕд/10^9) через 3 сут ($M \pm m$; n=9-10):
– тимус; – селезенка; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

В наших исследованиях показано, отравление ТХЭ инициирует ПОЛ (табл. 7.45).

Т а б л и ц а 7.45

Действие острой интоксикации ТХЭ (0,75 ЛД50) на показатели перекисного окисления липидов у крыс через 3 сут (M+m; n=9-10)

Токсиканты	СПР, усл. ед.	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	20,4±5,9	264,5±27,5	39,7±3,9	6,54±0,51
Трихлорэтилен	51,0±6,7*	150,0± 26,8*	24,0± 2,3*	8,68± 0,67*

Примечание: СПР – суммарная продукция радикалов; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Нами установлено (табл. 7.46), что под влияние ТХЭ содержание кортикостерона (КС) в плазме крови через 1-3 ч после интоксикации значительно увеличивается. Увеличение КС в крови под влиянием ТХЭ помимо общей для всех токсикантов активации ГГНС, может быть обусловлено стимуляцией ацетилхолином центральных м-холинореактивных структур, приводящей к увеличению продукции АКТГ [Гурин В.Н., 1970; Денисенко П.П. и соавт, 1970, Денисенко П.П., 1980] вследствие антихолинэстеразного эффекта ТХЭ [Нацюк М.В., 1979; Тиунов Л.А., 1990; Забродский П.Ф., и соавт., 2003].

Таблица 7.46

Влияние острой интоксикации ТХЭ (0,75 $ЛД_{50}$) на содержание кортикостерона в плазме крови крыс, нг/мл (M ± m; n=7-10)

Токсиканты	Время после воздействия, ч		
	1	3	12
Контроль	19,7±2,4	26,4±3,1	12,8±2,7
ТХЭ	82,3±5,2*	58,3±4,7*	16,3±2,2

Примечание: * - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

При вычислении коэффициентов корреляции между концентрацией кортикостерона в крови и АОК к ЭБ, реакцией ГЗТ, активностью ЕКК при остром отравлении крыс ТХЭ установлено, что они составляли от -0,708 до -0,767 ($p<0,05$).

Таким образом, острая интоксикация спиртами и хлорированными углеводородами повышает концентрацию КС в плазме крови через 1 и 3 ч. Через 24 ч содержание КС в плазме крови после действия токсикантов восстанавливается до контрольного значения. Установлена обратная корреляция между гуморальной иммунной реакцией, формированием ГЗТ и концентрацией кортикостерона в крови после острого отравления спиртами и хлорированными углеводородами.

Исследование иммунотоксичности ТХЭ позволяет заключить, что при остром отравлении данным соединением снижаются показатели

доиммунных механизмов защиты и системы иммунитета (устойчивость животных к инфекции, Т-зависимый и Т-независимый гуморальный иммунный ответ, активность Т-клеток, естественных клеток-киллеров, АЗКЦ, реакция ГЗТ). В механизме поражения системы иммунитета при отравлении ТХЭ существенную роль играют постинтоксикационная активация ГГНС, инициация ПОЛ и ингибирование эстераз Т-лимфоцитов.

7.7.2. Коррекция нарушений иммунного гомеостаза при острой интоксикации трихлорэтиленом

Экспериментально установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2006] (табл. 7.47), что применение имунофана в течение 4 сут в дозе 10 мкг/кг через 5 сут после отравления ТХЭ приводило к практически полному восстановлению показателей системы иммунитета. Так, препарат вызывал увеличение числа АОК к ЭБ по сравнению с параметром при интоксикации ТХМ в 1,75 раза, АОК к Vi-Ag – в 1,63 раза, ЕЦ – в 1,57 раза, АЗКЦ – в 1,75 раза, а ГЗТ – в 2,00 раза

Таблица 7.47

Влияние имунофана на гуморальные и клеточные иммунные реакции крыс при острых отравлениях трихлорэтиленом (0,75 $ЛД_{50}$) (M±m; n=8-9)

Вещества	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	34,3±3,7	28,7±2,9	28,2±2,7	17,1±2,0	31,5±3,3
ТХЭ	20,2±2,3*	19,3±2,1*	19,2± 1,9*	11,5±1,6*	17,1±1,9*
ТХЭ+ И	35,3±3,5	31,5±3,2	30,1±3,0	20,2 ± 2,1	34,3±3,2

Примечание: И – имунофан; * -$p<0,05$ по сравнению с контролем.

Использование имунофана после острого действия ТХЭ (табл. 7.48) вызывало повышение по сравнению с показателем при интоксикации активности каталазы, характеризующей АОС, в 1,73 раза ($p<0,05$) и пероксидазы - в 1,65 раза ($p<0,05$) Содержание основного продукта ПОЛ МДА имунофан после острого отравления ТХМ снижал по сравнению с показателем при интоксикации в 1,30 раза ($p<0,05$). Таким образом, применение имунофана после острого отравления ТХМ практически полностью снижает инициированное интоксикацией ПОЛ.

Таблица 7.48

Действие острой интоксикации хлорированными углеводородами (0,75 $ЛД_{50}$) на показатели перекисного окисления липидов у крыс

через 3 сут (M±m; n=8-9)

Вещества	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	264,5±27,5	45,4±4,3	5,57±0,30
ТХЭ	150,0± 26,8*	28,0± 2,3*	7,39± 0,31*
ТХЭ + И	259,8±26,1	46,1±4,4	5,70±0,35

Примечание: И – имунофан; * – p<0,05 по сравнению с контролем.

Таким образом, иммуностимулирующий эффект имунофана обусловлен его антиоксидантным действием в сочетании с иммуностимулирующим эффектом в отношении гуморальных и клеточных иммунных реакций.

***

Завершая данную главу, можно констатировать, что при остром отравлении спиртами и хлорированными углеводородами происходит нарушение доиммунных механизмов защиты организма и иммунного статуса, приводящее к дозозависимому снижению устойчивости животных к экспериментальной инфекции, редукции факторов неспецифической резистентности организма – уменьшению содержания Т- и В-лимфоцитов в органах системы иммунитета, супрессии Т-зависимого и Т-независимого гуморального иммунного ответа, активности Т-клеток, естественных клеток-киллеров, АЗКЦ. Характер нарушения НРО и иммунного статуса под влиянием спиртов и хлорированных углеводородов в целом характеризуется общими (неспецифическими) проявлениями вторичного иммунодефицитного состояния различной длительности и интенсивности, однако некоторые токсиканты имеют свои особенностями поражения системы иммунитета (популяций и субпопуляций лимфоцитов) в зависимости от их токсикодинамических и токсикокинетических свойств.

В механизме поражения системы иммунитета при отравлении спиртами и хлорированными углеводородами существенную роль играет постинтоксикационная активация гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, инициация ПОЛ, а при интоксикации хлорированными углеводородами, кроме того, ингибирование эстераз Т-лимфоцитов. Патогенетические особенности поражения спиртами и хлорированными углеводородами иммунной системы предполагают возможность использования для иммунокоррекции тимогена, Т-активина, миелопида, имунофана, полиоксидония и фолината кальция.

ГЛАВА 8. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НИТРИЛОВ

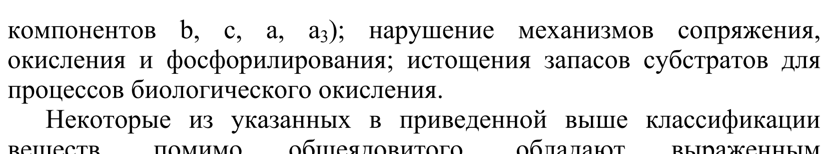
8.1. Общая характеристика химических веществ общеядовитого действия

Общеядовитыми называются вещества, способные в результате взаимодействия с различными биохимическими структурами вызывать острое нарушение энергетического обмена, которое и является в тяжелых случаях одной из основных причин смерти отравленного.

К веществам общеядовитого действия относятся гемолитические токсиканты (анилин, мышьяковистый водород, медный купорос, уксусная кислота); яды, действующие на гемоглобин (оксиды азота, сернистый ангидрид, оксид углерода); ингибиторы ферментов дыхательной цепи (цианиды, сероводород, акрилонитрил, ацетонитрил, аммиак, некоторые антибиотики, барбитураты); разобщители окисления и фосфорилирования (динитрофенол, динитроортокрезол); вещества, истощающие запасы субстратов для процессов биологического окисления (этиленхлоргидрин, этиленфторгидрин и др.)

Энергообразование в организме включает следующие стадии: появление в результате метаболизма субстратов, способных окисляться, отдавая электроны и водород, транспорт электронов и водорода по цепи дыхательных ферментов, акцепция электронов и водорода кислородом, механизм сопряжения транспорта электронов по цепи дыхательных ферментов с синтезом АТФ [Саватеев Н.В., 1978; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К.,1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Маркова И.В. и соавт., 1998]. Основным генератором энергии в организме являются митохондрии, содержащие весь набор ферментов цикла Кребса (цикла трикарбоновых кислот) – основного источника субстратов для окисления, способствующего получению энергетических запасов клетки. Во внутренней мембране митохондрий локализованы энзимы дыхательной цепи, осуществляющие транспорт электронов и водорода от субстрата на кислород [Ленинджер А., 1974].

Причинами нарушения энергообмена могут быть острый дефицит кислорода в тканях, что наблюдается при затруднении или прекращении транспорта кислорода кровью; повреждение цепи дыхательных ферментов (ингибирование НАД, ФАД, цитохрома Q,


компонентов b, c, a, a_3); нарушение механизмов сопряжения, окисления и фосфорилирования; истощения запасов субстратов для процессов биологического окисления.

Некоторые из указанных в приведенной выше классификации веществ, помимо общеядовитого, обладают выраженным раздражающим, а при высоких концентрациях и удушающим действием. Следует отметить, что большинство ТХВ в той или иной степени оказывают влияние на тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование [Саватеев Н.В., Куценко С.А., 1993; Куценко С.А., 2004].

Самая обширная группа промышленных ядов объединяет вещества, способные при ингаляционном воздействии вызывать формирование токсического отека легких, а при резорбции во внутренние среды организма нарушать энергетический обмен по одному из указанных выше механизмов. К ним относятся акрилонитрил, ацетонитрил, сероводород, сернистый ангидрид, аммиак, азотная кислота и оксиды азота. Интоксикация этими веществами сопровождается тяжелейшей гипоксией смешанного типа: гипоксической (дыхательной, гемической, и/или гистотоксической (тканевой), а так как всегда развиваются нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы, то и циркуляторной. Многие ядовитые соединения этой группы обладают сильнейшим прижигающим действием [Саватеев Н.В., Куценко С.А., 1982; Куценко С.А., 2004].

8.2. Токсикология нитрилов. Иммунотоксичность

Нитрил акриловой кислоты (НАК, акрилонитрил, цианэтилен, 2-пропеннитрил, цианвинил) - летучая, бесцветная, горючая жидкость с характерным слабым сладковатым запахом; слабо растворим в воде, смешивается с большинством органических растворителей. Пары акрилонитрила взрываются с образованием цианистого водорода. Температура кипения при 760 мм рт. ст. 77,3 °C, плотность при 20 °C 0,8060 кг/$м^3$. Температура замерзания – минус 83,55 °C; температура воспламенения – 481 °C; молекулярная масса - 53,06 Да. Смесь паров НАК с воздухом (от 3 до 17% по объему) является взрывоопасной [American Cyanamid, 1974].

Впервые акрилонитрил был получен в 1893 г. К 1976 г. в мире произведено около 2400000 тонн НАК. Нитрил акриловой кислоты широко используется в промышленности как сырье для производства полиакрилонитрильных и модакриловых нитей, синтетических каучуков, нитриловых эластиков, акрилоамида, клея, оргстекла и

других материалов [Шустов В.Я. и соавт., 1985].

В экспериментах на животных было продемонстрировано ковалентное связывание акрилонитрила с компонентами тканей организма [Иванов В.В., 1980; Nilsen O.G., et al., 1980; Appel K.E. et al., 1981; Guengerich F.P., et al., 1981 Ghanayem B.I., Ahmed A.E., 1982 Silver E.H., Szabo S., 1982; Peter H., et al., 1983]. Прямое окисление акрилонитрила гидроперекисными соединениями происходит с вовлечением цианогруппы, хотя в биологических объектах, вероятно, происходит окисление двойной связи в оксиран глицидонитрила [Kopecky J., 1982].

Отравление НАК возможно при поступлении яда ингаляционным путем, через кожные покровы и желудочно-кишечный тракт [Willhite C.C., Smith R.P., 1981]. Острые отравления акрилонитрилом возникают, как правило, в результате возникновения аварийных ситуаций на химических производствах, нарушений техники безопасности в лабораториях или при ошибочном употреблении внутрь.

Пороговая величина по запаху для акрилонитрила в среднем составляет 40,4 мг/м^3 (18,6 ч/млн), интервал от 0,007 до 109,4 мг/м^3 (0,0031-50,4 ч/млн) [Baker R.A., 1963].

НАК относится к веществам второго класса токсичности – высокотоксичным и высокоопасным [Шустов В.Я. и соавт., 1985]. При пероральном поступлении для мышей ЛД$_{50}$ НАК составляет 25- 48 мг/кг, для крыс – 78-186 мг/кг (при внутрибрюшинном введении – 65-110 мг/кг). Для морских свинок при подкожном введении – 99 мг/кг [American Cyanamid, 1974; Германчук В.Г., 2000; Беликов В.Г., 2001].

Данные о токсичности НАК для животных в острых опытах приведены в табл. 8.1.

Таблица 8.1

Среднелетальные дозы (DL$_{50}$) НАК в острых опытах на животных (по данным различных авторов)

Вид (линия)/ пол животных	Путь поступления	Растворитель	DL$_{50}$	Авторы
Мыши / самцы	Пероральный	Вода	36 мг/кг	Tullar P.E. (1947)
Мыши / самки	Пероральный	Вода	48 мг/кг	Tullar P.E. (1979)
Мыши (Н) самцы	Пероральный	Изотонический раствор NaCl	25 мг/кг	Benesh V., Cherna V. (1971)
Крысы (Wistar)	Пероральный	Изотонический раствор NaCl	78 мг/кг	Paulet G., Vidal M. (1985)
Крысы	Внутрибрю-	Изотонический	110 мг/кг	Knobloch K. (1981)

(Wistar) самцы	шинный	раствор NaCl		
Крысы (Wistar) самцы	Внутрибрю-шинный	Полиэтилен-гликоль	65 мг/кг	Paulet G., Vidal M. (1985)
Крысы (Spra-gu-Dawley)	Пероральный	Вода	186 мг/кг	Monsanto L. (1985)
Морские свинки	Подкожный	Вода	99 мг/кг	Knobloch K. (1971)

При остром воздействии акрилонитрила среднелетальные дозы варьируют для различных видов лабораторных млекопитающих от 25 до 186 мг/кг. При нанесении жидкого акрилонитрила на кожу хвоста крыс-самцов среднесмертельная доза составляет 282 мг/кг [Зотова Л.В., 1976]. Отчетливой зависимости между DL_{50} и путем поступления акрилонитрила в организм, видом растворителя, полом животных не отмечено. Мыши более чувствительны к токсическому действию акрилонитрила по сравнению с крысами, морскими свинками и кроликами. Гибель собак наступала после внутривенного введения акрилонитрила в дозе 300 мг/кг [Graham J.P.D., 1965].

Концентрация акрилонитрила в крови и печени достигала более высоких значений после внутривенного или внутрибрюшинного введения, чем после пероральной затравки; однако быстро снижалась в крови (период полужизни $t_{0,5}$ составляет 19 мин) и печени ($t_{0,5}$ равен 15 мин после внутривенного введения и 21 мин после внутрибрюшинного введения) [Nerudova J. et al., 1980; Gut I. et al., 1981]. Период полужизни после перорального отравления в крови составляет 61 мин, а в печени - 70 мин, что, видимо, обусловлено более медленным всасыванием, чем выведением. Доказательством более быстрого метаболизма акрилонитрила в печени, чем в крови, является большая площадь под кривой "концентрация - время" для содержания вещества в крови, чем в печени, как после перорального, так и после внутривенного и внутрибрюшинного введения [Gut I. et al., 1981].

Токсикокинетика акрилонитрила характеризуется довольно равномерным распределением этого вещества, а также тем, что максимальные уровни его накопления в некоторых органах и эритроцитах обусловлены реакцией метаболитов акрилонитрила с растворимыми и белковыми молекулами, содержащими сульфгидрильные группы [Шустов В.Я. и соавт., 1985; Nerudova J. et al., 1981].

Зарегистрирована относительно более длительная задержка

акрилонитрила в тканях мозга и мышцах. В цитозольных фракциях мозга, печени и почках крыс выявлено повышенное содержание НАК, меченым ^{14}C [Ahmed A.E. et al., 1982; Sato M. et al., 1982].

Экспериментальные данные относительно распределения НАК в организме, тканевые повреждения, вызванные его воздействием, не указывают на повышенную кумуляцию этого вещества в каком - либо определенном органе или ткани (за исключением эритроцитов), при его хроническом воздействии [Ефремов А.М., 1976 Quast J.F. et al., 1977].

В организме биотрансформация акрилонитрила протекает довольно интенсивно. Так, при внутрибрюшинном введении акрилонитрила мышам в дозе 20 и 35 мг/кг наблюдается превращение в метаболиты соответственно 88 и 55% яда. Метаболизм акрилонитрила происходит в печени, в корковом и мозговом слое почек, легких, селезенке, эпителии желудочно-кишечного тракта, коже [Parsons J.C., Mitzners 1975].

Основными метаболитами акрилонитрила являются меркаптуровые кислоты, образующиеся в результате реакции соединения акрилонитрила или глицидонитрила с глутатионом, которые катализируются глутатион-S-трансферазами [Ефремов А.М., 1976]. Выделены и идентифицированы из мочи животных, по меньшей мере, 10 метаболитов акрилонитрила [Kopecky J. et al., 1980], в том числе - цианид, глицидонитрил, 2-цианэтанол, циануксусная кислота, уксусная кислота, которые значительно токсичнее акрилонитрила.

Результаты опытов на животных показывают, что цианид, образующийся in vivo при участии тиосульфаттрансферазы, последовательно превращается в тиоционат и выводится с мочой. У крыс после введения акрилонитрила в дозе 60 мг/кг экскреция тиоционата с мочой наблюдалась с постоянной скоростью - 0,53 мг/ч, а период полувыведения составлял 13 ч [Ahmed A.E., Patel K., 1981]. Сульфгидрильные соединения (цистеин, унитиол, тиосульфат натрия) повышают активность тиосульфатсульфидтрансферазы в превращении цианида в тиоцианат как в условиях in vitro, так и in vivo [Frankenberg L., 1980]. Аналогичного эффекта в отношении акрилонитрила наглядно показать не удалось [Gut I., et al. 1975], возможно, вследствие ингибирующего влияния акрилонитрила на тиосульфатсульфидтрансферазы. В этом отношении интересны результаты иммунотоксичности НАК в комбинации с тиосульфатом натрия [Забродский П.Ф., Ромащенко С.А., 1998], свидетельствующие

о том, что исследуемый антидот усиливает некоторые иммунотоксические эффекты НАК, вероятно, вследствие собственных отрицательных иммунотоксичных свойств в больших дозах, используемых для антидотной терапии.

К основным синдромам при отравлении акрилонитрилом относятся: угнетение функции ЦНС, гастроэнтерит, нарушение функции печени и почек, сердечно-сосудистой системы [Лазарев Н.В., 1976; Шустов В.Я. и соавт., 1985; Brieger H. et al., 1952; Graham J. P.D., 1965]. Акрилонитрил способен в летальных дозах вызывать поражение надпочечников [Szabo S., Selye H., 1971; 1972; Szabo S., 1980]. Это обстоятельство дает основания полагать, что иммунотоксичность НАК не связана с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [Забродский П.Ф.,Киричук В.Ф., 1998].

При остром действии паров НАК на человека наблюдаются головные боли, головокружение, раздражение слизистых глаз, носа и горла, ощущение распирания в грудной клетке, рвота, тремор, нарушение координации движения, судороги. Спустя сутки после воздействия отмечается увеличение печени, желтуха [Sartorelli E., 1966]. Действие НАК на кожу сопровождается раздражением и покраснением кожных покровов с последующим образованием пузырей через 5 мин – 24 ч, но системных эффектов не наблюдалось [Бабанов Г.П., 1957]. Рабочие, подвергающиеся воздействию НАК на протяжении примерно 3 лет (при концентрации 0,6-6,0 мг/м^3) страдали головными болями, бессонницей, жаловались на боли в области сердца, общую слабость, пониженную работоспособность и повышенную раздражительность [Бабанов Г.П. и соавт., 1959; Шустов В.Я., Маврина Е.А., 1975; Шустов В.Я. и соавт. 1985].

Существует предположение о возможном механизме повреждающего действия акрилонитрила на надпочечники, которое реализуется в результате активации перекисного окисления липидов [Шустов В.Я. и соавт., 1985; Silver E.H., Szabo S., 1982], что может иметь значение в механизмах реализации иммунотоксических эффектов. Известно, что гормоны коры надпочечников в физиологических концентрациях необходимы для реализации иммунного ответа, в то же время, при стресс – реакции (в частности, на острое отравление), они способны оказывать иммуносупрессивное действие [Корнева Е.А. и соавт., 1978; Корнева Е.А., 1985; Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Корнева Е.А. и соавт., 1988; Забродский П.Ф., 1998; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., 1998; Забродский П.Ф.,

Германчук В.Г., 2000].

Таким образом, акрилонитрил обладает выраженной токсичностью при различных путях поступления в организм. Острые отравления акрилонитрилом отличаются от интоксикаций промышленных растворителей и пластмассовых мономеров тяжестью, высокой летальностью и связаны с действием как самого яда, так и его метаболитов (глицидонитрила, 2-цианэтанола, циануксусной кислоты, уксусной кислоты, циан-иона).

Ацетонитрил (АН, нитрил уксусной кислоты, метилцианид, цианметан) – летучая, бесцветная, горючая жидкость с запахом эфира. Смешивается с водой, этиловым спиртом, большинством органических растворителей. Температура кипения при 760 мм рт. ст. 81,6 °С, температура плавления –41 °С, плотность - 0,783 кг/м^3, молекулярная масса - 41,05 Да [Трубников Н.А. 1966; Лазарев Н.В., 1976].

АН широко используется в химической промышленности в органическом синтезе, производстве ароматических веществ, фармацевтических и парфюмерных препаратов как селективный растворитель углеводородов, масел [Мехтиев С., 1966].

Ацетонитрил метаболизируется, в основном, образуя цианид, за счет которого проявляется его токсическое действие. Экспериментальные исследования различных авторов позволяют считать, что в тканях людей, погибших от отравления ацетонитрилом, обнаруживается циан-группа [Парк Д.В., 1973; Purchase J.F., et al. 1987].

Изложенные факты дают основания рассматривать механизм токсического действия АН, в основном, как реализацию эффекта циан-иона. В период токсического действия циан-ион ингибирует компонент a_3 цитохром -с- оксидазы. Циан-ион также блокирует свыше 40 других железо-, медь-, цинксодержащих ферментов [Тиунов Л.А., 1961; Ленинджер А., 1974; Диксон М., Уэбб Э., 1982; Страйер Л., 1985; Ершов Ю.А., Пастнева Т.В., 1989].

Решающая роль циан-иона в механизме токсического действия ацетонитрила не исключает наличие некоторых отличий в эффектах действия данного вещества от других цианидов. Так, при введении перорально белым мышам 1,0 LD_{50} ацетонитрила, манолотрила и цианистого калия через 1 ч в печени образуются циан-ионы соответственно 16 мкг/г; 3090 мкг/г и 3380 мкг/г [Faroogui M.J., 1982]. Вероятно, это обусловлено более медленной биотрансформацией АН по сравнению с другими соединениями.

К основным метаболитам АН относятся роданиды, муравьиная кислота и аммиак. При подкожном введении ацетонитрила белым мышам вследствие окисления циан-ионов тиосульфаттрансферазой происходит увеличение роданидов в сыворотке крови максимально через 7 ч [Трубников Н.А. 1966; Лазарев Н.В., 1976].

Среднесмертельная доза DL_{50} АН при введении в желудок белым мышам составляет 200 мг/кг, белым крысам - 3800 мг/кг, при подкожном введении 1200 мг/кг и 1900 мг/кг соответственно; морским свинкам - 140-260 мг/кг При вдыхании АН LD_{50} для белых мышей составляет 3,4 мг/л, белых крыс - 26,8 мг/л (экспозиция 4 часа), морских свинок - 9,4 мг/л, кроликов - 4,7 мг/л. При аппликации на кожу АН в дозе 1,25 мл/кг половина кроликов погибала в течение 8 ч [Трубников Н.А., 1966; Лазарев Н.В., 1976; Измеров Н.Ф. и соавт. 1977; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000; Grahl K. 1968].

К основным синдромам при остром отравлении АН, независимо от путей поступления в организм, относятся: начальная заторможенность (наркотический эффект) или возбуждение, расстройство координации движения, угнетение рефлексов, мышечная дрожь, судороги, смерть от остановки дыхания [Лазарев Н. В., 1976]. Данные о токсических эффектах ацетонитрила ограниченны. Отмечено тератогенное действие АН у хомяков, связываемое авторами с высвобождением циан-ионов в процессе его метаболизма [Willhite C., 1983]. Введение АН и ацетона крысам в разных отношениях показало, что ацетон потенцирует острый токсический эффект в 3-4 раза [Freeman J.J., Hayes E.P., 1985]. В опытах in vitro на суспензии микросом печени крыс установлено, что инкубация в присутствии паров АН под давлением 89 мм рт. ст. на протяжении 20 мин с компонентами системы генерации НАДФ·Н сопровождалось накоплением циан-ионов со скоростью 2,74 нМ/мг белка/20 мин [Freeman J.J., Hayes E.P., 1985].

Таким образом, ацетонитрил обладает выраженной токсичностью при различных путях поступления в организм. Острые отравления ацетонитрилом отличаются от интоксикаций промышленных растворителей тяжестью и высокой летальностью и связаны с действием как самого яда, так и его метаболитов (аммиака, муравьиной кислоты, циан-иона).

Акрилонитрил и ацетонитрил представляют собой высокотоксичные химические соединения, которые широко

используются в химической промышленности. Эти агенты чрезвычайно опасны при загрязнении местности, в случае аварий на химических объектах, обладают выраженной токсичностью при различных путях поступления в организм. Острые отравления отличаются от интоксикаций промышленными растворителями и пластмассовыми мономерами выраженными клиническими проявлениями и высокой летальностью.

Нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2000] в экспериментах на беспородных мышах при подкожном введении акрилонитрила в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50}, исследовалось интегральное состояние антиинфекционной неспецифической резистентности организма. В данной экспериментальной модели токсиканты и суточная культура *E. coli* вводились одновременно. Летальность оценивалась до 36 ч, через каждые 4 ч.

В результате проведенных опытов было установлено (табл. 8.2), что нитрил акриловой кислоты в дозе 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} приводит к увеличению летальности среди лабораторных животных. Так, у мышей по сравнению с контролем, составляющим 60%, этот показатель увеличивался соответственно на 6,6%, 15% и 25%.

Таблица 8.2

Влияние острой интоксикации НАК на показатели неспецифической резистентности у мышей ($M \pm m$)

Показатель	Доза НАК, DL_{50}			
	Контроль	0,1	0,5	0,8
Летальность, %	60,0±10,6 (20)	66,6±12,1 (15)	75,0±9,7 (20)	85,0±8,9 (20)
DL_{50} *E. coli*, 10^9 микр. тел	1,82±0,21 (20)	1,61±0,22 (18)	1,43±0,18 (15)	1,28±0,14* (15)
Et_{50}, ч	15,9±2,1 (20)	12,2±2,5 (18)	9,8±1,9* (15)	8,5±2,4* (15)

Примечание: в скобках число животных в каждой серии; * – различие с контролем достоверно $p<0,05$.

Свидетельством супрессии интегрального показателя НРО является также снижение DL_{50} *E.coli* при действии НАК. При введении НАК в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} у мышей отмечалось уменьшение DL_{50} *E.coli* соответственно на 11,5%, 21,4% и 29,7% (статистически значимое - $p<0,05$- при дозе 0,8 DL_{50}).

Проведенные эксперименты свидетельствуют о сокращении среднеэффективного времени жизни (Et_{50}) мышей под влиянием НАК. Так, при подкожном введении НАК в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} у мышей Et_{50} сокращалось соответственно на 23,2%, 38,4%, 46,5%.

Статистически значимое снижение Et_{50} отмечалось при дозах 0,5 и 0,8 DL_{50}.

Выявленные изменения НРО под влиянием акрилонитрила могут быть обусловлены ингибированием многочисленных энзимов, в том числе неспецифических эстераз клеточных элементов, в частности клеток крови [Забродский П.Ф., 1987], как самим ядом, так и его метаболитами. При этом, вероятно, помимо снижения продукции неспецифических факторов защиты организма, уменьшается также устойчивость клеток тканей к микроорганизмам и их токсинам [Горизонтов П.Д., 1981; Забродский П.Ф, Германчук В.Г., 2001]. Не исключено, что помимо ингибирования эстераз макрофагов, моноцитов и нейтрофилов редукция НРО обусловлена снижением процессов тканевого дыхания вследствие взаимодействия цианистого водорода (одного из метаболитов НАК) с компонентом a_3 цитохромоксидазы клеток крови [Забродский П.Ф., 1998; 2002].

Таким образом, под влиянием НАК происходит дозозависимое снижение показателей НРО у мышей.

Нами оценивалось [Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2000] интегральное состояние иммунологической резистентности по летальности мышей и крыс в течение 36 часов от экспериментальной инфекции, DL_{50} E.Coli и Et_{50} после острой интоксикации НАК и АН через 5 суток после предварительной иммунизации животных культурой E.Coli в дозе 10^6 микробных тел. Полученные данные характеризуют состояние иммунологической резистентности, так как со 2 суток начинают формироваться проявления гуморальных и клеточных иммунных реакций, которые достигают максимального уровня через 5-7 суток по ряду наиболее значимых показателей (синтез IgM, АЗКЦ, функция Т-клеток) [Фримель Х., Брок Й., 1986 Петров Р. В., 1987 Ройт А. и соавт. 2000].

В результате проведенных экспериментов установлено (табл. 8.3), что подкожное введение НАК в дозе 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} вызывает увеличение летальности у мышей соответственно на 19,4%, 47,2% и 58,3%, статистически значимое ($p<0,05$) при дозах 0,5 и 0,8 DL_{50}. Острая интоксикация АН в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} при подкожном введении у мышей приводила к увеличению летальности соответственно на 13,9%, 36,1% и 52,8% (табл. 8.4). Статистически значимые различия ($p<0,05$) отмечались при дозах 0,5 и 0,8 DL_{50}.

Таблица 8.3

Влияние острой интоксикации нитрилом акриловой кислоты на

показатели интегральной иммунологической резистентности у мышей (M+m)

Показатель	Доза НАК, DL_{50}			
	Контроль	0,1	0,5	0,8
Летальность, %	25,0+6,8 (40)	44,4+11,7 (18)	72,2+10,6* (18)	83,3+8,8* (18)
DL_{50} *E. coli,* 10^9 микр. тел	4,31+0,22 (40)	3,75+0,23 (18)	3,25+0,28* (18)	3,05+0,29*(18)
Et_{50}, ч	28,1+2,2 (40)	25,1+2,6 (18)	20,3+2,8* (18)	15,5+2,7* (18)

Примечание: в скобках число животных в каждой серии; * - различие с контролем достоверно р<0,05.

Таблица 8.4

Влияние острой интоксикации нитрила ацетонитрилом на показатели интегральной иммунологической резистентности у мышей (M+m)

Показатель	Доза АН DL_{50}			
	Контроль	0,1	0,5	0,8
Летальность, %	25,0+6,8 (40)	38,9+11,5 (18)	61,1+11,5* (18)	77,8+9,8* (18)
DL_{50} *E. Coli,* 10^9 микр. тел	4,31+0,22 (40)	3,82+0,20 (18)	3,45+0,25* (18)	3,21+0,22* (18)
Et_{50}, ч	28,1+2,2 (40)	24,5+2,5 (18)	18,5+2,6* (18)	16,4+2,3* (18)

Примечание: в скобках число животных в каждой серии; * - различие с контролем достоверно р<0,05.

При введении НАК у мышей отмечалось снижение DL_{50} *E.coli* соответственно на 13,0; 24,6 и 29,2% при дозах 0,1, 0,5 и 0,8 LD_{50}, значимые изменения (р<0,05) зарегистрированы при средней и максимальной дозах.

Действие АН в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} вызывало уменьшение DL_{50} *E.coli* у мышей соответственно на 11,4; 19,9 и 25,5%. Статистически значимые различия (р<0,05) отмечались при дозах 0,5 и 0,8 DL_{50}.

Среднеэффективное время жизни (Et_{50}) при подкожном введении НАК в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} у мышей сокращалось соответственно на 10,7; 27,7 и 44,8% (различия статистически значимы при дозах 0,5 и 0,8 DL_{50}). Острое отравление АН у мышей вызывало сокращение среднеэффективного времени жизни животных на 12,8; 34,2 и 41,6% при дозах соответственно 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50}. Статистически достоверные различия у мышей отмечались при дозе 0,5 и 0,8 DL_{50}.

Отмеченные сдвиги иммунологической резистентности организма экспериментальных животных, вероятно, связаны с влиянием НАК, АН и их метаболитов на индуктивную и продуктивную фазы иммуногенеза вследствие нарушения процесса переработки и представления антигена

макрофагами, кооперации этих клеток с Т- и В-лимфоцитами, миграции КОЕс из костного мозга в селезенку и т. д. [Горизонтов П. Д., 1981а Ройт А. и соавт., 2000; Забродский П. Ф., 1998, 2002].

Таким образом, под влиянием нитрилов снижаются показатели, характеризующие интегральное состояние иммунологической резистентности организма.

Нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2000] установлено (табл. 8.5), что под влиянием острой интоксикации АН происходит увеличение летальности мышей, статистически значимое уменьшение DL_{50} *E. coli* и Et_{50} мышей, свидетельствующее о супрессии антиинфекционной НРО.

Уменьшение резистентности животных к экспериментальной инфекции, наряду с другими причинами, может быть связано с зарегистрированным нами снижением активности ЕКК и функции нейтрофилов, БАСК, сывороточного содержания лизоцима и тромбоцитарного катионного белка (ТКБ).

Под влиянием острой интоксикации АН установлено (табл. 8.6) уменьшение КОЕс, свидетельствующее о снижении их миграции из костного мозга в селезенку.

Под влиянием АН происходило снижение синтеза антител к Т-зависимому (ЭБ) и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам. При этом снижение зависимой от Т-хелперов антителопродукции было более выражено.

Таблица 8.5

Влияние острой интоксикации ацетонитрилом на показатели неспецифической резистентности организма (M±m)

Показатель	Контроль	0,5 DL_{50}	0,8 DL_{50}
Летальность, %	50,0±11,2 (20)	70,0±10,2 (20)	80,0±8,0* (25)
DL_{50} *E. coli*, 10^8 микробных тел	1,43±0,12 (20)	1,05±0,10* (20)	0,88±0,11* (20)
Et_{50}, ч	17,2±2,3 (20)	12,8±2,2 (20)	11,3±1,8* (25)
ЕЦ, %	35,1±6,2 (7)	17,8±5,2* (10)	12,2±4,1* (10)
БАСК, %	82,3±3,6 (30)	60,5±5,1* (15)	45,6±6,6* (15)
Лизоцим, мг/л	7,1±0,8 (30)	5,5±0,8 (15)	4,2±1,1* (15)
ТКБ, %	60,1±2,3 (30)	48,1±3,9* (15)	43,5±3,2* (15)
ИАН	0,24±0,02 (30)	0,10±0,02* (15)	0,08±0,01* (15)
Обсемененность *E. coli* периферической крови (0,05 мл)	25,0±8,5 (7)	73,0±6,5* (6)	51,0±10,1* (7)
Число *E. coli* в селезенке, 10^2	67,0±10,1 (10)	110,0±9,3* (10)	153,0±10,9* (8)

Примечание: ИАН – индекс активности нейтрофилов в НСТ-тесте; в скобках – число

животных; * - различие с контролем достоверно -$p<0,05$.

Т а б л и ц а 8.6

Изменение показателей системы иммунитета при острой интоксикации ацетонитрилом у мышей (M±m; n=6-10)

Показатель	Контроль	0,5 DL_{50}	0,8 DL_{50}
Число КОЕс	12,3±3,2	7,3±2,3	5,1±2,0*
Титр антител к ЭБ, -log титра	5,5±0,2	3,2±0,3*	2,5±0,3*
АОК к ЭБ, 10^3	15,5±3,9	9,5±3,0	6,8±2,0*
АОК к Vi-Ag, 10^3	10,1±2,8	7,5±2,1	6,3±1,7
АЗКЦ, %	9,1±1,6	6,8±2,2	4,2±1,5*
ГЗТ, %	28,5±2,4	22,3±1,7*	19,2±1,5*

Примечание: * -$p<0,05$, по сравнению с контролем.

Так, число АОК к ЭБ уменьшалось при дозах 0,5 и 0,8 LD_{50} в 1,63 ($p>0,05$) и 2,27 раза ($p<0,05$) соответственно, а к Vi-Ag в тех же дозах – в 1,34 и 1,60 раза ($p>0,05$) соответственно. Острая интоксикация ацетонитрилом при дозах 0,5 и 0,8 DL_{50} приводила к уменьшению функции К-клеток в 1,33 ($p>0,05$) и 2,16 ($p<0,05$) раза соответственно, снижению формирования ГЗТ – в 1,27 и 1,48 ($p<0,05$) раза соответственно.

Выявленное снижение показателей НРО при острой интоксикации АН может быть связано с поражением клеток крови, продуцирующих неспецифические факторы защиты, изменением биохимических реакций и морфологических структур клеток, определяющих их резистентность к инфекции. Важную роль в данных процессах играет, видимо, не столько ацетонитрил, сколько его токсические метаболиты, в частности циановодород. Вероятно, именно циановодород, ингибируя компонент a_3 цитохром-с-оксидазы системы ферментов тканевого дыхания митохондрий иммунокомпетентных клеток, определяет иммунотоксический эффект АН. Необходимо отметить, что циановодород при метаболизме АН поступает в систему тканевого дыхания митохондрий клеток лимфоидных органов в течение нескольких часов (до суток). Важно подчеркнуть, что однократная доза циановодорода, даже в сублетальной концентрации (0,8 DL_{50}) в виде цианистого калия, не оказывала влияния на исследованные параметры НРО и систему иммунитета. Так, активность ЕКК в контроле и опыте равнялась соответственно 31,2 ± 4,5 и 33,4 ± 4,2 % (n=6, $p>0,05$), а число АОК к ЭБ в селезенке составляло соответственно в контрольной и опытных группах 21,2 ±

3,1 тыс. и 24,3 ± 3,8 (n=7, p>0,05).

Нарушение в большей степени Т-зависимого иммунного ответа по сравнению с Т-независимым под влиянием АН обусловлено его действием одновременно на большее число клеток, участвующих в данной иммунной реакции: макрофаги, В-лимфоциты и Т-клетки (в данной модели – на лимфоциты Th1-типа). Тимуснезависимый гуморальный иммунный ответ, как известно, обеспечивается функцией В-клеток, активируемых антигеном в присутствии ИЛ-1 [Ройт А. и соавт., 2000], секретируемом в основном макрофагами.

Закономерно предположить, что Т- зависимая гуморальная иммунная реакция требует больших затрат энергии, основным источником которой является АТФ, чем Т- независимая. Вследствие ингибирования компонента a_3 системы тканевого дыхания при остром отравлении АН продукция АТФ, вероятно, значительно снижается, что приводит к уменьшению синтеза циклических нуклеотидов (цГМФ и цАМФ), необходимых для реализации процессов пролиферации и дифференцировки иммуноцитов. Снижение реакции ГЗТ отражает токсическое действие ацетонитрила на клеточный иммунитет и может быть связано со снижением активности макрофагов и Т-клеток, относящихся к субпопуляции Th1, синтезирующих ИЛ-3, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, а также ИЛ-2, β-фактор некроза опухоли – лимфотоксин, γ-интерферон [Kimber I., 1996], участвующие в реализации данной и других иммунных реакций.

Полученные результаты позволяют полагать, что при отравлении АН одной из причин тонатогенеза могут быть инфекционные осложнения и заболевания, связанные со снижением НРО и функции Th1-лимфоцитов и АЗКЦ.

Снижение гуморального и клеточного звена иммунного ответа связано, вероятно, с общетоксическим действием веществ данной группы: ингибированием цитохром-с-оксидазы (цитохромов а и a_3) цианидом в системе ферментов тканевого дыхания митохондрий иммуноцитов и нарушением в результате этого различных биохимических процессов как самими веществами, так и их токсичными метаболитами [Забродский П.Ф., 1998; 2002].

Нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2001] установлено, что при интоксикации НАК и АН в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} на 1 сутки происходит достоверное (р□0,05) угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов в 1,5, 2,7, 4,0 и 1,3, 2,4 и 3,0 раза соответственно. К 3 суткам отмечалось восстановление фагоцитарной активности

нейтрофилов при интоксикации нитрилами в дозе 0,1 DL_{50}. Через 6 суток после воздействия НАК и АН индекс активности нейтрофилов приближается к контрольным значениям при дозе 0,5 DL_{50}. При дозе 0,8 DL_{50} отмечалось восстановление данного показателя к 12 суткам.

Таким образом, при острой интоксикации НАК и АН в дозах 0,1, 0,5 и 0,8 DL_{50} отмечалось достоверное (р□0,05) через 1 сутки угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов. Показатель ИАН статистически значимо (р□0,05) снижается на 3 сутки при введении НАК и АН в дозах 0,5 и 0,8 DL_{50}. Восстановление фагоцитарной активности нейтрофилов происходит к 6 суткам при дозе 0,5 DL_{50} и к 12 суткам эксперимента при дозе 0,8 DL_{50}. Супрессия данного показателя более выражена при действии акрилонитрила.

В опытах на крысах показано [Забродский П.Ф., Мысник Л.В., 2007], что под влиянием острого, подострого и хронического воздействия (при экспозиции 30 и 60 сут) НАК фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов (ФМАН) существенно снижалась. Воздействие НАК приводило к существенной редукции фагоцитарного показателя, фагоцитарного числа, показателя НСТ-теста спонтанного и индуцированного) в течение 1-9 сут (табл. 8.7).

Так, спонтанный НСТ-тест под влиянием НАК через 1 сут снижался соответственно в 2,36 раза ($p<0,05$). Восстановление показателей при остром действии НАК отмечалось к 12 сут.

Т а б л и ц а 8.7

Изменение фагоцитарно-метаболической активности ПЯЛ крыс под влиянием острого воздействия НАК (0,75 DL_{50}) через 1-12 сут

Серии опытов	Показатели	Срок наблюдения, сут			
		1	3	9	12
Контроль	ФП	30,2±2,0			
	ФЧ	1,83±0,20			
	НСТ сп	0,31±0,03			
	НСТ инд	0,61±0,04			
НАК	ФП	12,3±1,4*	19,2±1,8*	23,0±2,1*	26,1±2,5
	ФЧ	0,35±0,12*	0,68±0,21*	1,19±0,14*	1,45±0,22
	НСТ сп	0,09±0,02*	0,16±0,02*	0,21±0,02*	0,26±0,03
	НСТинд	0,17±0,03*	0,28±0,04*	0,45±0,04*	0,56±0,05

Примечание: ФП, ФЧ – соответственно фагоцитарный показатель, фагоцитарное число; НСТ – НСТ-тест спонтанный и индуцированный – индекс активности ПЯЛ; в каждой серии использовалось 9-11 животных; * – различие с контролем достоверно $p<0,05$.

После подострого и хронического действия НАК в дозах 0,01 и

0,005 DL_{50} (при экспозиции соответственно 30 и 60 сут) показатели ФМАН существенно снижалась по сравнению с контролем (p<0,05), причем степень их снижения приблизительно соответствовала редукции параметров после острого действия НАК в дозе 0,75 DL_{50} через 3 сут (табл. 8.8).

Т а б л и ц а 8.8

Изменение фагоцитарно-метаболической активность ПЯЛ крыс под влиянием подострого и хронического воздействия НАК через 1 сут после воздействия

Показатели	Контроль	НАК (1/7 DL_{50} x 6)	НАК (0,01 DL_{50}×30)	НАК (0,005 DL_{50}× 60)
ФП	30,2±2,0	17,9±1,5*	20,3±2,0*	18,7±1,7*
ФЧ	1,83±0,20	0,69±0,13*	0,77±0,22*	0,65±0,24*
НСТ сп	0,31±0,03	0,16±0,03*	0,18±0,02*	0,20±0,02*
НСТ инд	0,61±0,04	0,28±0,03*	0,30±0,04*	0,34±0,04*

Примечание: ФП, ФЧ – соответственно фагоцитарный показатель, фагоцитарное число; НСТ – НСТ-тест спонтанный и индуцированный – индекс активности ПЯЛ; в каждой серии использовалось 8-11 животных; * - различие с контролем достоверно p<0,05.

Полученные в НСТ-тесте данные могут позволить предположить, что воздействие НАК реализуется вследствие взаимодействия яда с НАДФ·Н, $НАДФ^+$ [Забродский П.Ф., 2002, 2005]. Действие НАК, помимо общетоксического эффекта (нарушение тканевого дыхания метаболитом циан-ионом), а также, вероятно, антиэстеразного эффекта, может быть также связано с ингибированием $ФАД^+$, ФАД·Н, восстановленным и окисленнным убихиноном и цитохромом b_{245} лейкоцитов или иными механизмами нарушения функционирования НАДФ·Н-оксидазного комплекса нейтрофилов. Возможно, НАК, кроме кислородзависимых антиинфекционных систем фагоцитоза, поражают и кислороднезависимые микробицидные системы фагоцитов.

Показано [Давыдова Е.В. и др., 2004], что снижение показателей НСТ-теста при действии токсикантов сопровождается снижением внутриклеточного содержания катионных белков в нейтрофилах крыс. Исследование ФМАН после острого отравления НАК показало прямо связанное с дозой снижение данного параметра через 1 сут (табл. 8.9).

Т а б л и ц а 8.9

Изменение фагоцитарно-метаболической активности ПЯЛ крыс

после острого отравления НАК в зависимости от дозы через 1 сут, %

Доза, DL_{50}	Показатель	Срок наблюдения после воздействия: 1сут
Контроль	ФП	30,2±2,0
	ФЧ	1,83±0,20
	НСТсп	0,31±0,03
	НСТинд	0,61±0,04
0,25	ФП	19,8±1,3*
	ФЧ	1,23±0,12*
	НСТсп	0,17±0,02*
	НСТинд	0,48±0,04*
0,5	ФП	16,0±1,5*
	ФЧ	0,79±0,14*
	НСТсп	0,13±0,02*
	НСТинд	0,32±0,04*
0,75	ФП	12,3±1,4*
	ФЧ	0,35±0,12*
	НСТсп	0,09±0,02*
	НСТинд	0,17±0,03*

Примечание: ФП, ФЧ – соответственно фагоцитарный показатель, фагоцитарное число; НСТ – НСТ-тест спонтанный и индуцированный – индекс активности ПЯЛ; в каждой серии использовалось 8-11 животных; * - различие с контролем достоверно $p<0,05$.

Снижение НАК ФМАН может быть связано с центральной нервной системой (ЦНС). В настоящее время тесная связь действия токсикантов с функцией ЦНС доказана [Корнева Е.А., 1985; Петров Р.В., 1987; Иванова А.С., 1998; Забродский П.Ф., 1998, 2002; Hart M.N., Zsuzsanna F., 1995; Husband A.I., 1995; Wilson S., Mireile D., 1995]. Воздействуя на процессы тканевого дыхания, химические вещества общеядовитого действия, в частности НАК, оказывают токсическое действие на центральную нервную систему, нарушая выработку медиаторов и процесс нервной регуляции, что приводит к потере контроля над функционированием иммунной системы [Иванова А.С., 1998; Забродский П.Ф., 1998, 2002; Shrikant P., Benveniste E., 1996].

Важную роль в супрессии ФМАН может играть дисфункция ГГНС под влиянием НАК. При этом возможно изменение реактивности организма и снижение функции фагоцитов (угнетение их цитотоксичности) [Гребенюк А.Н. и др., 1998; Забродский П.Ф. и соавт., 2005]. В экспериментах на животных показано, что глюкокортикоиды снижают суммарную фагоцитарную активность фагоцитов, причем существенную роль в данном феномене играет

адреналин [Гребенюк А.Н. и др., 1998].

Данные литературы позволяют полагать, что НАК может снижать функцию ГГНС, однако это не исключает роли гормонов надпочечников в изменении ФМАН. Возможно снижение продукции кортикостерона (так же как и ее повышение) ингибирует активность фагоцитов. Редукция активности ФМАН может быть связана с мембранотоксическим действием НАК, инициацией ПОЛ мембран нейтрофилов, взаимодействием продуктов метаболизма НАК с различными радикалами на мембране макрофагов и микрофагов, супрессией функции ферментов тканевого дыхания митохондрий продуктом биотрансформации НАК циан-ионом ПЯЛ [Лудевиг Р., Лос К., 1983; Голиков С.Н. и др., 1986; Забродский, 1998, 2002). Не исключено ингибирование НАК эстераз нейтрофилов [Забродский П.Ф., 1998, 2002].

Проведенные нами опыты показали (рис. 8.1), что под влиянием НАК активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т- лимфоцитах тимуса и селезенки у крыс через 3 сут существенно снижается.

Изучение активности эстераз в селезенке показало (рис. 8.2), что острое действие НАК вызывало статистически значимое уменьшение активности α- нафтил-AS-ацетатэстеразы соответственно в 1,37 раза по сравнению с контролем. Под влиянием острой интоксикации НАК происходило статистически достоверное уменьшение активности □-нафтилбутиратэстеразы в 1,43 раза по сравнению с контрольным значением.

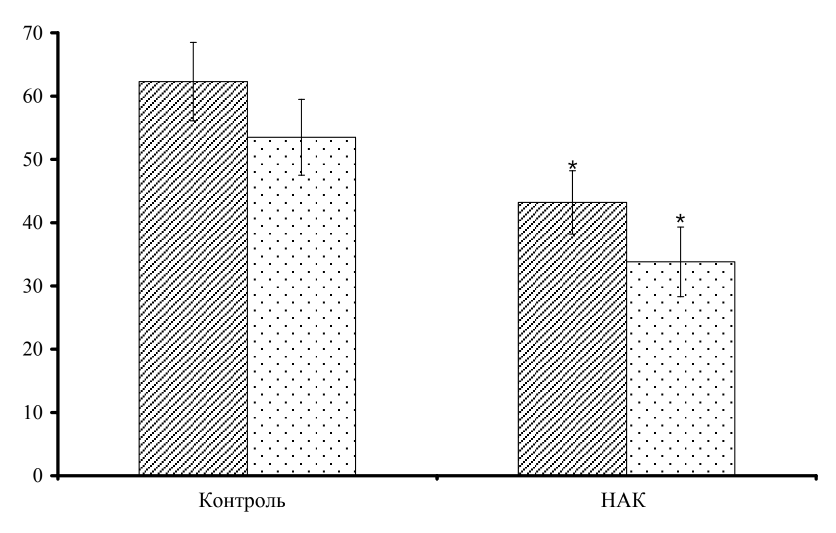


Рис. 8.1. Действие НАК (0,8 DL_{50}) на активность ацетилхолинэстеразы в Т-лимфоцитах тимуса и селезенки у крыс (мЕд/10^9) через 3 сут (М±m; n=7-10):
▨ – тимус; ⬚ – селезенка; * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

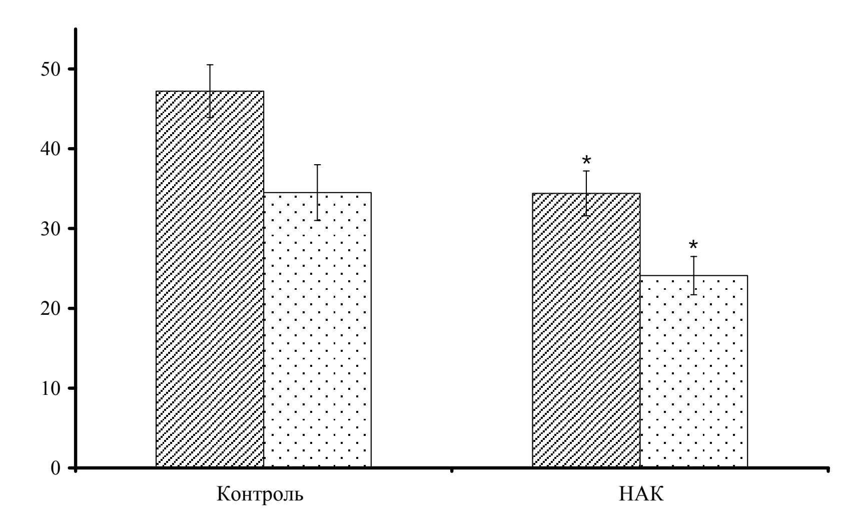


Рис. 8.2. Влияние острого отравления НАК (0,8 DL_{50}) на активность α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α-нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах крыс (М±m; n=6-8):
▨ – содержание α -нафтил-AS-ацетатэстеразопозитивных клеток, %; ⬚ – содержание α -нафтил-бутиратэстеразопозитивных клеток,%;
* – различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

Не вызывает сомнения, что при действии НАК формирование иммунодефицитного состояния наряду с другими факторами связано с ингибированием эстераз Т-клеток токсикантом и продуктами его метаболизма.

Снижение фагоцитарной активности нейтрофилов в НСТ - тесте происходит в результате действия НАК на НАДФ и НАДФ□Н-оксидазу лейкоцитов [Брызгина Т. М., 1989]. Кроме того, учитывая тесную связь ферментативных реакций с участием различных ферментов, можно предположить, что на редукцию фагоцитарной активности нейтрофилов оказывает влияние возможность ингибирования НАК и АН α-нафтил-AS-D-хлорацетатэстеразы нейтрофилов [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д. 1983].

Таким образом, после острого отравления НАК происходит дозависимое снижение ФМАН до 12 сут. Подострое и хроническое действие НАК в дозах 0,01 и 0,005 DL_{50} в течение 30 и 60 сут существенно снижает показатели ФМАН, причем степень их уменьшения приблизительно соответствует редукции параметров после острого действия НАК через 3 сут и подострого действия яда через 1 сут.

Установлено, что у рабочих, подвергающихся хроническому воздействию акрилонитрила в производственных условиях, наблюдалась пониженная функциональная активность Т-лимфоцитов [Иванов В.В., 1980□ Шустов В.Я. и соавт., 1985; Шустов В.Я., Довжанский И.С., 1987]. При остром отравлении акрилонитрилом в опытах на мышах происходит блокирование способности селезеночных Т-клеток супрессоров подавлять иммунный ответ [Tucker A.N. et al., 1987].

Эпидемиологические и экспериментальные исследования влияния циан-ионов на клеточное звено иммунного ответа при хроническом действии в малых дозах противоречивы. При изучении на жителях Либерии хронического действия цианидов, потреблявших с пищей умеренные и высокие количества цианидов, было установлено повышение у них уровней IgA, IgG, IgM [Jackson J.C. et al., 1985].

При осмотре рабочих, контактирующих с роданидом аммония, было установлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и концентрации IgA у 60% рабочих [Савченко М.В., 1987]. Исследования на морских свинках показали, что тиоциан и цианат селена (24 мг/кг) угнетали антителообразование, а цианат селена в дозе 4 мг/кг усиливал антителообразование [Kramer A. et al., 1984].

Действие циан-иона на клеточный иммунный ответ следует

рассматривать не только как проявление изолированного эффекта, но и как влияние на Т-лимфоциты, К-клетки и ЕКК роданидов (SCN), образующихся в процессе биотрансформации. Скорость этого процесса, представляющего собой обезвреживание яда, составляет 1 мг/кг CN в час [Лудевиг Р., Лос К., 1983].

Возможность реализовать иммунотоксический эффект у нитрилов может быть связана с центральной нервной системой (ЦНС). В настоящее время тесная связь действия токсикантов с функцией ЦНС доказана [Корнева Е.А., 1985; Петров Р.В., 1987; Иванова А.С., 1998; Забродский П.Ф., 1998; Hart M.N., Zsuzsanna F., 1995; Husband A.I., 1995; Wilson S., Mireile D., 1995]. Воздействуя на процессы тканевого дыхания, химические вещества общеядовитого действия оказывают токсическое действие на центральную нервную систему, нарушая выработку медиаторов и тем самым процесс нервной регуляции, что приводит к потере контроля над функционированием иммунной системы [Иванова А.С., 1998; Забродский П.Ф., 1998; Shrikant P., Benveniste E., 1996].

Гормоны гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) контролируют деятельность иммунокомпетентных клеток и при определенном режиме введения способны проявлять иммуностимулирующие свойства [Корнева Е.А., 1985; Корнева Е.А. и соавт., 1988; Claman H.N., 1972]. На различных стадиях созревания иммунокомпетентных клеток и по отношению к различным субпопуляциям лимфоцитов действие глюкокортикоидов может быть стимулирующим или угнетающим [Юрина Н.А., Тамахина А.Я., 1996; Ягмуров О.Д., Огурцов Р.П., 1996; Dhabhar F.S. et al., 1996; Mc. Ewen Bruse S., et al., 1997; Ficek W. 1997].

8.2.1. Влияние на иммунные реакции сочетанного действия нитрилов с механической травмой

Сочетание механической травмы и острого отравления может приводить к значительному увеличению смертности и инвалидизации больных вследствие инфекционного процесса, на течение которого существенное воздействие оказывает постинтоксикационное и посттравматическое и иммунодефицитное состояние. Подобные ситуации могут возникать при авариях на химических предприятиях синтезирующих и использующих АН и НАК.

В экспериментальных исследованиях на белых крысах нами

[Забродский П.Ф. и соавт., 2002] установлено, что под влиянием тяжелой механической травмы и острой интоксикации АН и НАК (табл. 8.10) статистически значимо снижался отрицательный двоичный логарифм титра антител к Т-зависимому антигену - ЭБ. Аналогичные изменения выявлены при исследовании содержания АОК в селезенке крыс как к ЭБ, так и к Vi-Ag. Действие травмы, НАК и АН вызывало уменьшение числа АОК к ЭБ соответственно в 1,74; 2,16 и 2,07 раз ($p<0,05$).

Таблица 8.10

Влияние сочетанного действия травмы и острой интоксикации нитрилами на показатели гуморального иммунного ответа (M±m)

Серии опытов	Титр антител к ЭБ, $-log_2$ титра	АОК к ЭБ, 10^3	Vi-Ag, 10^3
Контроль	5,8±0,1 (30)	28,4±1,2 (30)	21,8±1,1 (30)
Травма	4,5±0,4* (6)	16,3±2,8* (6)	13,0±2,2*(7)
НАК	3,7±0,3* (6)	13,1±2,4* (6)	14,3±2,5* (6)
НАК + травма	3,5±0,2* (6)	14,2±2,1* (7)	13,9±2,1* (8)
АН	3,3±0,4* (6)	13,7±2,3* (6)	16,0±2,2*(6)
АН+травма	3,0±0,2* (5)	12,5±2,2* (7)	12,7±1,9* (8)

Примечание: в скобках – число животных; $p<0,05$: * – по сравнению с контролем; ° – по сравнению с контролем и с изолированным действием травмы и нитрилов.

НАК и АН в сочетании с травмой уменьшали формирование АОК к ЭБ в селезенке соответственно в 2,00 и 1,96 раза по сравнению с контролем. При сочетании травматического повреждения и нитрилов иммуносупрессивные эффекты были связаны только с действием ядов. Число АОК к тимуснезависимому Vi-Ag под влиянием травмы, токсикантов и их сочетанного действия снижалось в меньшей степени, чем к ЭБ.

Действие тяжелой механической травмы и острой интоксикации нитрилами (табл. 8.11) статистически значимо снижало содержание Т-клеток к тимусе, функцию ЕКК, оцениваемую по ЕЦ, АЗКЦ и реакцию ГЗТ. При этом редукция клеточных иммунных реакций при сочетанном действии веществ общеядовитого действия и травмы определялась токсикантом.

Острое отравление НАК и АН вызывало повышение содержания КС в крови через 1 ч в 1,5 и 1,4 раза соответственно (табл. 8.12), видимо, в результате постинтоксикационной стресс-реакции, которое сменялось снижением синтеза КС через 3 и 24 ч, в результате

ингибирования основным метаболитом нитрилов циан-ионом компонента a_3 цитохром-с-оксидазы системы энзимов тканевого дыхания митохондрий коры надпочечников [Dhabhar F. S. et al., 1996].

Таблица 8.11

Влияние сочетанного действия травмы и острой интоксикации нитрилами на показатели клеточного иммунного ответа (M ± m)

Серии опытов	Содержание Т-клеток в тимусе, 10^6	ЕЦ, %	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	762±44 (25)	31,5±1,2 (27)	11,8±0,5 (25)	29,5±0,8 (25)
Травма	441±51* (6)	17,2±2,2* (11)	6,9±1,4* (9)	17,2±1,4*(9)
НАК	579±53* (7)	17,0±2,7* (9)	6,3±1,1* (7)	14,8±1,2*(10)
НАК+травма	438±45* (7)	16,1±2,4* (9)	6,1±1,3 * (7)	13,1±1,3* 10)
АН	525±57 * (10)	15,0±2,5* (10)	7,0±1,2* (8)	11,9±1,6* (7)
АН+травма	450±39* (10)	14,5±1,3* (10)	8,2±1,5* (8)	12,6±1,7* (7)

Примечание: в скобках – число животных; p<0,05: * – по сравнению с контролем; ** – по сравнению с эффектом травмы; ° –по сравнению с контролем и с изолированным действием травмы и нитрилов.

Таблица 8.12

Влияние сочетанного действия травмы и острой интоксикации нитрилами на содержание кортикостерона в плазме крови, нг/мл (M±m, n=7-9)

Серии опытов	Контроль	Время после воздействия, ч		
		1	3	24
Травма	17,1±1,6	51,6±5,5*	48,9±3,7*	19,5±2,2
НАК	20,2±2,8	30,1±2,5*	15,5±1,5*	12,1±2,1*
НАК+травма	16,9±3,0	31,5±5,0*	21,1±2,4*	10,3±2,4*
АН	21,0±2,3	29,5±3,0*	17,9±1,6*	11,7±2,7*
АН+травма	18,3±3,1	32,0±5,2*	25,7±2,8*	13,2±2,0*

Примечание: p<0,05: * – по сравнению с контролем; ** – по сравнению с изолированным действием НАК и АН и их сочетанным эффектом с травмой; ° – по сравнению с контролем и с изолированным действием травмы и нитрилов.

Содержание кортикостерона через 1 и 3 ч через было снижено по сравнению с контролем после воздействия НАК и АН в сочетании с травмой соответственно на 39 и 28% (p>0,05).

Полученные результаты показывают, что редукция показателей системы иммунитета под влиянием нитрилов и их сочетанного воздействия с механическим повреждением не связана с эффектом кортикостероидов.

При изучении влияния на ЕКК НАК, АН (0,8 $ЛД_{50}$), травмы и их

сочетаний нами установлено (табл. 8.13), что данные факторы и их сочетанное воздействие снижают активность естественных клеток-киллеров через 1 сут после воздействия соответственно в 1,83; 1,85; 1,96; 2,10 и 2,17 раза ($p<0,05$), а через 3 сут - соответственно в 1,55; 1,61; 1,68; 1,92 и 1,97 раза ($p<0,05$) по сравнению с контролем.

Т а б л и ц а 8.13

Влияние травмы, острых отравлений НАК, АН (0,8 LD_{50}) и их сочетаний на активность естественных клеток-киллеров крыс, % (M±m; n=8-11)

Серии опытов	Время после интоксикации, сут			
	1	3	6	9
Контроль	31,5± 2,0			
Травма	17,2 ±2,2*	20,3±2,2*	23,1± 2,8*	30,2± 3,0
НАК	17,0 ±2,7*	19,5±2,3*	22,2± 3,0*	27,6± 2,9
НАК+травма	16,1±2,4*	18,7±2,5*	24,3±2,4*	28,8±2,3
АН	15,0±2,5*	17,3±2,8*	24,6±2,6*	29,7±2,5
АН+травма	14,5±1,3*	16,0±2,1*	20,9±2,9*	26,6±2,8

Примечание: * - различие с контролем достоверно - $p<0,05$.

Через 6 сут сохранялось статистически значимое снижение активности ЕКК, а к 9 сут происходило восстановление активности ЕКК до контрольного уровня.

Существенных различий между действием травмы, нитрилов и их сочетаний не выявлено, что свидетельствует об отсутствии суммации иммуносупрессивных эффектов нитрилов и травматического повреждения.

Действие НАК, АН, травмы и их сочетаний на активность ЕКК, вероятно, обусловлено блокированием проникновения гранзимов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени (или снижением их синтеза) и нарушением процесса порообразования перфорином [Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984], а также индукцией апоптоза естественных клеток-киллеров [Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Kimber I., More M., 1985; Marx J.L., 1986].

***

Результаты исследований, изложенные в данной главе, позволяют постулировать, что острая интоксикация нитрилами приводит к дозозависимому снижению доиммунных механизмов защиты (антиинфекционной неспецифической резистентности организма)

вследствие снижения бактерицидной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности нейтрофилов, сывороточной активности лизоцима, тромбоцитарного катионного белка (β-лизина), редукции гуморального иммунного ответа преимущественно к Т-зависимому антигену, супресии клеточного иммунного ответа, оцениваемого по показателям антителозависимой клеточной цитотоксичности и по реакции гиперчувствительности замедленного типа. Механизмами формирования иммунодефицитного состояния при действии нитрилов на клеточном уровне является инактивация эстераз Т-клеток, а также ингибирование компонента a_3 цитохром-с-оксидазы системы тканевого дыхания митохондрий иммунокомпетентных клеток. На уровне систем и органов иммунотоксические эффекты нитрилов обусловлены снижением числа колониеобразующих клеток в селезенке, свидетельствующем о поражающем действии ядов на стволовые кроветворные клетки и уменьшении лимфоцитов в органах системы иммунитета. Существенных различий между действием травмы, нитрилов и их сочетаний не выявлено, что свидетельствует об отсутствии суммации иммуносупрессивных эффектов нитрилов и травматического повреждения.

ГЛАВА 9. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА МЕТАЛЛОВ

Практически все иммунные процессы в организме реализуются с участием минералов и редкоземельных металлов. Целый ряд иммунопатологий может быть связан с нарушением их баланса в организме. При оптимальных концентрациях позитивное воздействие на иммунные реакции оказывают бор, цинк, железо, литий, молибден, негативное воздействие наблюдается при повышении концентрации свинца, ванадия, вольфрама, кадмия, золота, кобальта, платины, серебра, олова и других элементов. Иммуномодулирующие эффекты отмечаются у марганца, магния, меди, селена, германия [Kieffer F., 1989]. Иммунотропные свойства металлов обусловлены тем обстоятельством, что большинство из них участвуют в энзимных реакциях или способны нарушать функцию многочисленных ферментных систем, куда они входят в качестве коэнзимов.

Реакция иммунной системы на поступление металлов зависит от генотипа. Следует учитывать, что при дефиците металлов, относящихся к микроэлементам (железо, литий, цинк, медь, селен, бор), развиваются различные нарушения иммунного статуса [Забродский П.Ф., 1998]. Многие металлы вызывают аутоиммунные, аллергические и канцерогенные эффекты. В целом реакция иммунной системы на металлы зависит от дозы, экспозиции, вида исследованных в эксперименте животных, пути поступления в организм, использовании моделей in vivo или in vitro. Высокие дозы (концентрации) как необходимых для организма металлов, так и не участвующих в ферментативных реакциях и токсичных оказывают отрицательное действие на иммунный гомеостаз. Иммунотоксичность в целом прямо связана с токсичностью металлов и их солей. Действие целого ряда металлов на иммунную систему не изучено. При избыточном накоплении в организме практически всех металлов в связи с загрязнением окружающей среды и профессиональными вредностями может отмечаться нарушение всех звеньев иммунной системы.

9.1. Алюминий

В организме человека содержится около 60 мг алюминия, 30% - в костях. С пищей и водой ежедневно в организм поступает около 45 мг алюминия. Для крыс при пероральном введении $ЛД_{50}$ $AlCl_3$

составляет 755 мг/кг. Физиологическая потребность в алюминии для различных тканей составляет от 7 до 450 мМ. Токсические эффекты алюминия связаны с его влиянием на метаболизм фосфора и фосфорорганических соединений. Связывание фосфата алюминием приводит к снижению АТФ в тканях, в крови повышается концентрация Са2+, вследствие чего уменьшается уровень паратгормона, при концентрации 200 мкМ ингибируются иммуноглобулиновые рецепторы селезенки.

Алюминий поражает ЦНС, нарушая холинергическую передачу нервного импульса. При этом отмечается неконкурентное ингибирование холинэстеразы, а также нарушение зависящего от трансферрина транспорта железа в организме [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Забродский П.Ф., 1998; Trapp G.A., 1983].

Иммунотоксичность алюминия практически не изучена. Гидроокись алюминия используется в качестве иммуноадьюванта в вакцинах для усиления иммунного ответа. Описано ингибирующее влияние данного соединения на метаболизм лекарственных веществ в печени [Descotes J. et al., 1984]. Алюминий при концентрации 1 мМ in vitro в течение 1 ч в 2 раза уменьшает хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов кролика [Ward P.A. et al., 1975]. Производственные факторы алюминиевого производства вызывают снижение содержания Т-лимфоцитов и увеличение количества В-лимфоцитов в крови рабочих; аналогичные изменения выявлены у крыс после 9 месяцев воздействия вредных факторов электролизного цеха [Забродский П.Ф., 1998]. При этом отмечалось повышение содержания клеток с фенотипом $CD8^+$ и $CD4^+$, у части обследованных наблюдали снижение коэффициента $CD4^+$/ $CD8^+$ за счет увеличения $CD8^+$ [Забродский П.Ф., 1998].

9.2. Бериллий

Элементный бериллий и его соединения находят прямое применение в атомной, электронной и электрохимической промышленности, различной технике. В организме человека содержится около 40 мкг бериллия. Поступление с пищей бериллия незначительно. Отравления происходят главным образом путем ингаляции промышленных ядов и пыли. О токсичности бериллия известно мало, содержание 20 мкг элемента на 1 кг сухой легочной ткани не является признаком профессионального отравления. У рабочих, подвергающихся действию бериллия в производственных

условиях, концентрация его в легких может достигать 100 мкг на 1 кг сухой ткани [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Бериллий является сильнейшим из известных ингибиторов щелочной фосфатазы, кроме того, он активирует неспецифические эстеразы гепатоцитов, амилазу поджелудочной железы, 2-фосфоглицератгидролазу, ферменты, катализирующие синтез ДНК. Мишенями бериллия могут быть иммуноглобулиновые рецепторы В-лимфоцитов, что проявляется снижением гуморального иммунного ответа [Забродский П.Ф., 1998].

Бериллиоз является иммунологическим заболеванием. Контакт с бериллием может проявляться реакцией ГЗТ и реализацией аутоиммунных механизмов [Descotes J. et al., 1984], возникновением рака легких [Bergeret A. et al., 1990]. Растворимые соединения бериллия при внутрижелудочном введении оказывают местное токсическое действие, приводят к образованию тканевых антигенов с последующей продукцией противожелудочных антител. Окись бериллия оказывает кратковременное и слабовыраженное аутоиммунное повреждение преимущественно желез оболочки желудка [Забродский П.Ф., 1998].

Выделяют 3 типа иммунологической реакции на хроническое воздействие бериллия малой интенсивности. Первый тип – состояние адаптации иммунной системы к действию бериллия: стабилизация носит защитный характер, нет существенных изменений в количестве и функциональном состоянии популяций лимфоцитов. Второй тип отражает развитие толерантности к бериллию, встречается редко, при этом несколько активировано Т-звено иммунитета. Третий тип встречается наиболее часто и характеризуется интенсивной сенсибилизацией и активацией В-системы на фоне лимфопении [Алексеева О.Г. и соавт., 1992]. Контакт с бериллием вызывает угнетение фагоцитарной реакции, выявляются заболевания почек, женских половых органов, у 90% лиц проявляются аутоиммунные реакции [Сагайдак-Черняк Н.Д. и соавт., 1992], в легких и верхних дыхательных путях развивается воспалительная реакция, формируется диффузный фиброз легких [Попов В.А. и соавт., 1987].

9.3. Ванадий

Ванадий содержится в организме человека в основном в мягких тканях (около 18 мг). Суточное потребление ванадия составляет 2 мг. Ванадий применяется в различных сплавах, используемых в

авиационной, ракетной, автомобильной, текстильной и лакокрасочной промышленности, в производстве стекла и глазурей.

Первое сообщение о роли ванадия, как необходимого элемента, появилось в 1971 г. Ванадий принимает участие в окислительно-восстановительных реакциях в мембранах клеток. Соединения ванадия издавна использовались как стимуляторы при анемии, для лечения сифилиса, туберкулеза, неврастении, ревматизма [Забродский П.Ф., 1998; Venugopal B., Luckey T.D., 1978].

Отравления ванадием могут происходить в производственных условиях или при избыточном приеме химиотерапевтических средств, употреблении пищевых продуктов с высоким содержанием данного элемента.

Токсичность ванадия низкая, кумулятивный эффект отсутствует. Механизмы токсического эффекта связаны с ингибированием 13 ферментативных систем [Забродский П.Ф., 1998], с нарушением жирового обмена, снижением синтеза фосфолипидов, холестерина. Ванадиевые соединения подобно инсулину катализируют окисление глюкозы. Подобно арсенату ванадий замещает фосфат в реакции с глицеральдегид-3-фосфатом, нарушая фосфорилирование и синтез АТФ, ингибирует различные АТФазы. Токсичность ванадия снижается аскорбиновой кислотой [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. , 1989].

Хроническое отравление ванадием может вызывать раздражение дыхательных путей, бронхиты и пневмонию [Забродский П.Ф., 1998].

Ванадий снижает фагоцитарную активность макрофагов кроликов при концентрации 5 и 10 мкг/мл in vivo при экспозиции 20 ч соответственно на 45 и 85% [Waters M.P. et al., 1974]. Аналогичная реакция отмечается со стороны гранулоцитов при поступлении в организм крыс с водой метаванадата аммония в концентрации 0,15 мг/мл [Zaporowska H., Wasilewski W., 1992]. Установлено снижение бласттрансформации лимфоцитов под влиянием ванадия [Shifrine M., et al., 1984]. У мышей следовые количества хлорида ванадия подавляли развитие реакции ГЗТ на нитрилхлорид, не изменяя уровня гуморального иммунного ответа [Hoshishima K. et al., 1985].

Бронхиальная астма при действии соединений ванадия сопровождается увеличением концентрации в крови IgE и IgG [Koller L.D., 1984].

Таким образом, ванадий снижает показатели доиммунной защиты организма и клеточную иммунную реакцию.

9.4. Вольфрам

Вольфрам встречается в природе в виде минералов вольфрамита и шеелита. Различные ткани организма содержат от 0,25 до 5мкг/кг вольфрама. Вольфрам не является необходимым элементом для растений и животных. Применяется для изготовления различных сплавов (особенно в атомной и авиационно-космической технике), катодов и антикатодов в электровакуумных и газоразрядных трубках, в качестве нитей ламп накаливания, для приготовления красителей утяжеленных огне- и водоустойчивых тканей. Сплав вольфрама, меди и никеля в полтора раза лучше защищает от ионизирующих излучений.

Отравления вольфрамом обычно происходят при продолжительном воздействии промышленными красителями, парами при его плавлении, случайном заглатывании вольфрамитов [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Пища, содержащая 0,5% вольфрамата или оксида вольфрама, замедляет рост крыс. У кроликов не выявляются сдвиги физиологических параметров при ежедневном введении 12 мг вольфрама в течение 6 нед [Kazantzis G. Tungsten A., 1979].

Механизмы токсичности вольфрамитов связаны с инактивацией молибденсодержащих энзимов. Вольфрам препятствует включению молибдена в молекулы ферментов. Нарушается функция энзимов цикла Кребса. Острое отравление вольфраматами может приводить к параличу дыхательного центра [Забродский П.Ф., 1998].

Исследования по иммунотоксичности вольфрама крайне ограничены. Описано двухкратное снижение хемотаксиса полиморфноядерных лейкоцитов у кроликов при концентрации вольфрама 1 мМ in vitro в течение часа [Забродский П.Ф., 1998]. У морских свинок контактной гиперчувствительности при нанесении на кожу 0,5; 2,5 и 5% растворов вольфрама не установлено [Bomun A., Fischer T., Hagelthorn G. et al. , 1982].

У 45,6% рабочих вольфрамово-молибденового рудника выявлены изменения иммунного статуса, а у 66% – признаки сенсибилизации к металлам [Дуева Л.А. и соавт., 1987].

9.5. Железо

В организме человека содержится около 4,5 г железа, ежедневное

необходимое потребление составляет около 1 мг [Emery T., 1982]. Для женщин в период менопаузы необходимая доза в 2 раза больше. Поскольку из пищи адсорбируется 10-20% железа, его содержание в продуктах питания должно составлять 10-20 мг/сут. В последний месяц беременности ежедневное необходимое потребление железа составляет 7-9 мг [Забродский П.Ф., 1998]. Железо присутствует во всех клетках организма и играет ключевую роль в некоторых биохимических реакциях. Этот элемент входит в состав гемоглобина, миоглобина, ряда ферменов (каталазы, цитохромов цепи дыхательных энзимов, Р-450-зависимых монооксигеназ). Железо является кофактором в негемовых ферментах - альдолазе, триптофаноксигеназе. Около 75% железа плазмы предназначается для образования эритроцитов [Emery T., 1982].

Недостаток железа проявляется железодефицитными анемиями. Широкое применение железа и его соединений может приводить к интоксикации при вдыхании паров сплавов, порошка руд и т. п. с его содержанием. $ЛД_{50}$ $FeSO_4$ для крыс при пероральном введении составляет 418 мг/кг [Забродский П.Ф., 1998]. У детей острое отравление наблюдали через 1-2 ч после случайного приема 0,5 г железа или около 2,5 г сульфата железа [Elinder C.G., Piscator M. , 1979].

Механизмы токсичности связаны с окислением в крови двухвалентного железа в трехвалентное. Ионы последнего образуют комплексы с белками плазмы (трансферрином, γ-глобулином). Это защищает клетки от действия ионов железа. Увеличение концентрации железа, превышающее необходимое для связывания с трансферрином, приводит к осаждению его в виде основных солей, реакции гидролиза снижают pH до 6,7. Малорастворимые коллоидные частицы способствуют возникновению тромбов, увеличивая свертываемость крови. Токсичные дозы железа инактивируют ферменты цикла Кребса, происходит накопление лактата и других кислот в крови и тканях. Установлено ингибирование железом глюкозо-6-фосфатазы, сукцинатдегидрогеназы и других энзимов [Venugopal B., Luckey T.D., 1978]. Соединения шестивалентного железа обладают высокой окислительной способностью.

Клиническая картина перорального отравления солями железа характеризуется рвотой, ацидозом, гепатитом, учащением дыхания, параличом, судорогами. У больных гемохроматозом отмечается увеличение опухолеобразования, а передозировка железа при лечении

способствует инфекционным осложнениям. Избыток железа приводит к идиопатическому гемохроматозу и β-талассемии [Забродский П.Ф., 1998]. Установлено, что in vitro ферритин комплекс, являющийся депо железа в организме, и цитрат железа подавляют функцию аллореактивных цитоксических Т-лимфоцитов к культурам клеток, полученным от мышей линии C57, BALB/c и CBA. Ингибирующее действие цитрата железа отмечено в широком диапазоне доз (от 1 до 30 мМ), более высокие концентрации угнетали 60% цитоксических Т-лимфоцитов. Цитрат железа не оказывал влияния на образование Т-супрессоров и слабо подавлял активность Т-хелперов, продуцирующих ИЛ-2. Спленоциты мышей, получавших декстран железа, характеризовались повышенной способностью формировать цитотоксические Т-клетки. Этого, однако, не наблюдалось при добавлении в культуру ИЛ-2, что свидетельствовало о дефиците Т-хелперов при хроническом действии токсических доз железа. Полученные данные [Good M.F., et al., 1985] позволяют утверждать, что острая интоксикация железом может подавлять функции цитоксических Т-лимфоцитов, а хроническая передозировка влияет на иммунорегуляцию. Эти эффекты могут иметь этиологическое значение при канцерогенезе и инфекциях, связанных с избытком железа в организме.

Показано, что $FeCl_3$, нитрилацетат железа, цитрат железа (в разведении 1:1) на 44-80% подавляли пролиферацию лимфоцитов крови здоровых людей под влиянием ФГА in vitro. Цитрат железа (разведение 1:20) и ферриоксамин В обладали слабым ингибирующим влиянием или вообще не подавляли пролиферацию лимфоцитов. Ферритин ингибировал при концентрации 1мкг/мл данную реакцию на 86%. Именно избыток данного фермента в сыворотке больных серповидноклеточной анемией определяет сниженный ответ лимфоцитов на митогены [Soyano A., Pons H., Montano R. et al., 1989]. У людей с избытком железа снижена фагоцитарная активность макрофагов (в ряде случаев - других фагоцитов), Т-хелперов, естественных киллеров, отмечается супрессия ответа Т-лимфоцитов в смешанной культуре, увеличено число циркулирующих Т-супрессоров. У людей генотипа HLA-A3 снижена секреция ферритина из мононуклеарных клеток крови [Забродский П.Ф., 1998].

Устойчивость мышей к экспериментальной инфекции при поступлении больших количеств железа в организм зависит от дозы и экспозиции. Отмечалось как снижение данного показателя (25 мг/кг

цитрата железа в течение 5-20 дней) [Kochan I. et al., 1984], так и его увеличение (40 мг/кг цитрата или сульфата железа в течение 3 сут) [Забродский П.Ф., 1998; Sword C.P., 1966].

Таким образом, избыток поступления в организм железа приводит к снижению доиммунных механизмов защиты, антителогенеза вследствие супрессии функции Т-хелперов и пролиферации Т-лимфоцитов. При оптимальных концентрациях железо оказывает позитивное действие на иммунные процессы [Kieffer F. , 1989].

9.6. Золото

В организме человека обнаруживается менее 10 мг золота, около 50% которого концентрируется в почках. В настоящее время золото как отражатель ионизирующих излучений, используется для покрытия космических спутников и костюмов космонавтов. В промышленных зонах содержание золота в пыли не превышает 50 нг/г. Соли золота применяют для лечения ревматоидных артритов, а его сплавы – в стоматологии.

Отравления золотом редки и обычно связаны с передозировкой терапевтических средств или побочными эффектами при терапии ревматоидных артритов. Показана противораковая активность препаратов золота, связанная, однако, с определенной токсичностью. Комплексные соединения трехвалентного золота токсичны для растений, животных и человека, но случаев тяжелых отравлений не описано [Забродский П.Ф., 1998].

Поступление золота в организм из зубных протезов незначительно при их использовании в течение многих лет. Золото не является необходимым элементом, но может быть стимулятором некоторых биохимических процессов [Venugopal B., Luckey T.D., 1978]. Коллоидные соединения металла фагоцитируются макрофагами и распределяются по органам в порядке снижения концентрации: печень – селезенка – почки. Задержка золота в тканях вызывает хризиаз – появление темных пятен на коже и в тканях внутренних органов. Хризиаз тканей почек проявляется нефропатическим синдромом. Механизмы токсического действия золота связаны с ингибированием тиоловых ферментов, Р-450-зависимых монооксигеназ. Тиолаты золота в крови взаимодействуют с сывороточным альбумином [Забродский П.Ф., 1998].

Данные об иммунотоксичности соединений золота ограничены описанием ингибирующего действия хлорида золота на хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов кроликов (0,23 мМ, in vitro, 1 ч)

[Ward P.A. et al., 1975]. Соли золота могут вызывать гиперчувствительность или аутоиммунные реакции, при этом формируется мембранный гломерулонефрит, системный васкулит, синдром Sjogren'a, возрастает содержание IgE в сыворотке крови. Чувствительность к металлу обусловлена генетически [Druet P. , 1993].

9.7. Кадмий

В природе кадмий не встречается в свободном виде и не образует специфических руд. Его получают как сопутствующий продукт при рафинировании цинка и меди. В организме человека содержится около 50 мг кадмия, появляется он к 10 месяцам жизни. Дневное потребление кадмия составляет около 215 мкг. Кадмий не является необходимым элементом для млекопитающих. Широко применяется в качестве защитных гальванических покрытий, в электротехнической и атомной промышленности. Соли кадмия в некоторых странах используются как антигельминтные и антисептические препараты в ветеринарии [Забродский П.Ф., 1998].

Отравление кадмием в основном связано с промышленными загрязнениями. Накопление кадмийсодержащих предметов (батареи, сплавы, краски) загрязняют питьевую воду и воздух. Атмосфера загрязняется в основном выбросами заводов цветной металлургии, при сжигании мусора и при истирании автомобильных покрышек, поскольку кадмий используется в производстве резины. Кроме того, фосфатные удобрения и навоз также содержат кадмий. Источником отравления кадмием является сигаретный дым (в 20 сигаретах содержится 15-18 мкг кадмия). Кадмиевая интоксикация может наступить при употреблении в пищу продуктов моря, особенно устриц. В Японии заболевание, вызванное отравлением кадмием известно под названием "itai-itai" [Забродский П.Ф., 1998].

Механизм токсичности кадмия связан с нарушением нуклеинового обмена. Кадмий ингибирует ДНК-полимеразу, нарушает синтез ДНК, блокирует присоединение тимидина к ДНК, предотвращая синтез тимидилата и тимидинкиназы, разобщает окислительное фосфорилирование и тканевое дыхание, инактивирует серосодержащие энзимы, Р-450-зависимые монооксигеназы, является антиметаболитом по отношению к цинку, защищая его в щелочной фосфатазе, блокирует синтез метаболитов витамина Д. Поступление кадмия в организм вызывает симптомы, связанные с дефицитом меди, цинка, железа. Хроническая интоксикация кадмием нарушает

минерализацию костей и увеличивает содержание кальция в печени. Летальная доза для крысы составляет 3,9 мг/кг при внутривенном введении [Забродский П.Ф., 1998; Schrocder H.A. , 1973].

Кадмий обладает онкогенными свойствами [Venugopal B., Luckey T.D., 1978]. Содержанию кадмия в табачном дыме приписывается определенная роль в этиологии рака легких. Кадмий вызывает нарушение скелета, поражения почек, тестикулярной формации, имеет значение в развитии рака простаты [Ashton J.F., Laura R.S., 1992].

Соединения кадмия обладают выраженной иммунотоксичностью [Borelka B.E., Salvaggio J.E., 1985], однако существуют данные, доказывающие различное действие его солей на Т- и В-звено иммунитета и неспецифическую резистентность организма. Так, ацетат кадмия не влияет на пролиферацию В-лимфоцитов, индуцированную липополисахаридом, и увеличивает на 20-70% пролиферацию под влиянием КонА и ФГА Т-лимфоцитов при пероральной интоксикации мышей (30-600 ppm) в течение 10 недель [Muller S. et al., 1979]. Данное соединение in vitro при концентрации 0,08-0,8 мМ в течение 30 мин снижает фагоцитоз перитонеальных и альвеолярных макрофагов, а также их киллерную активность 25-75% [Loose L.D. et al., 1978]. В дозе 6 мг/кг (однократно) ацетат кадмия снижает резистентность к бактериальной инфекции, вызванной S.enteritidis и E.coli [Cook J.A. et al., 1974]. Хлорид кадмия в дозе 50-300 ppm (per os) в течение 3-10 недель повышает Т-зависимый иммунный ответ у мышей к эритроцитам барана на 30% [Koller L.P., Roan I.G., 1980], в дозе 5 мг/кг (7 дней) - к тимуснезависимому антигену на 28% [Koller L.P., Roan I.G., 1983]. Доза, равная 7,5 мг/кг, при пероральном введении мышам (однократно), снижала Т-зависимое антителообразование на 25% [Koller L.P. et al., 1975]. Функция В-лимфоцитов, оцениваемая по розеткообразованию, снижалась при действии хлорида кадмия на мышей в течение 10 недель в дозе 30 ppm на 30% [Koller L.D., Brauner I.D., 1978]. Пролиферация Т-лимфоцитов мышей (3 ppm, per os, в течение 10 нед) уменьшалась на 47% [Koller L.P. et al., 1979]. Более высокие дозы хлорида кадмия (50-200 ppm в течение 3-9 недель) способны повышать данный показатель [Malave I. et al., 1984]. Хлорид кадмия значительно снижает фагоцитарную активность нейтрофилов, перитонеальных и альвеолярных макрофагов, макрофагов печени, резистентность к вирусной инфекции [Забродский П.Ф., 1998]. Большие дозы хлорида кадмия (10-250 мг/кг, per os, однократно) способны стимулировать фагоцитарную активность макрофагов

мышей, не влияя на ГЗТ, естественную цитотоксичность и гуморальный иммунный ответ к эритроцитам барана [Tomas P.T., Ratajczak H.V., Aranyi C. et al., 1985]. В дозе 8 мкМ in vitro хлорид кадмия стимулирует тимуснезависимый иммунный ответ, а в дозах 20 и 40 мкМ - снижает [Fujimaki H., 1985]. Большая чувствительность системы иммунитета к иммуносупрессивному действию кадмия отмечается у молодых мышей [Fujimaki H., 1987]. У крыс, получавших с водой соли кадмия, отмечалось снижение естественных киллеров в первые 30 сут вдвое, а затем повышалось в 1,5-2 раза в периферической крови и селезенке. После прекращения воздействия активность естественных клеток-киллеров восстанавливалась через 2 мес [Cifone M.G. et al. , 1989].

Установлено снижение под влиянием хлорида кадмия функциональной активности лимфопоэтических предшественников и числа клеток в костном мозге, антителообразующих клеток в селезенке [184], массы тимуса и продукции антител к тимуснезависимому антигену (300ppm , 14 дней, per os), функции В-клеток (1,8 мг/кг, однократно, внутрибрюшинно), гуморального Т-зависимого иммунного ответа (5-50 мкг/мл, вода, мыши, 3 нед), реакции ГЗТ [Descotes J., 1986]. У мышей 4-х линий при подкожном введении хлорида кадмия в суточной дозе 0,11; 0,33 и 1 мг/кг в течение 5 дней отмечается торможение генерации аллореактивных Т-лимфоцитов путем активации антигеннеспецифических супрессоров, стимуляция секреции В-клетками IgM и IgG, митогенеза Т-лимфоцитов под влиянием КоА [Hurtenbach U. et al. , 1988]. In vitro под влиянием кадмия (1-100 мкМ) тормозится естественная киллерная активность, АЗКЦ, снижается функция Т-киллеров, стимулированная ИЛ-2 у людей [Cifone M.G. et al., 1990]. У рабочих, контактирующих с кадмием, отмечены хромосомные аберрации в лимфоцитах, концентрация иммуноглобулинов в крови не изменялась, содержание лимфоцитов было повышено [Забродский П.Ф., 1998]. При совместном действии кадмия (50 мг/л) и цинка (500 мг/л), поступающих в организм мышей с питьевой водой, цинк отменяет вызванную кадмием супрессию активности естественных киллеров. В острых опытах выраженный иммуносупрессивный эффект был временным, через несколько дней все исследуемые показатели восстанавливались до нормы [Smialowicz R.J. et al., 1985].

Таким образом, соединения кадмия, обладая иммунотоксичностью, способны также в диапазоне определенных доз и экспозиций оказывать стимулирующее влияние на Т- и В-звено иммунитета.

9.8. Кобальт

В организме человека содержится 1,2 мг кобальта, из которых 0,1 мг - в виде витамина B_{12}. Кобальт необходим для гемопоэза, его биологическая роль была установлена в 1955 г. Естественное потребление составляет около 300 мкг, из них 40 мкг поступает в виде витамина В12. Широко используется в промышленности. Отравления могут происходить при вдыхании паров сплавов кобальта, терапевтическом применении его соединений, в частности, при использовании радиоактивного кобальта в онкологии. У млекопитающих отмечается толерантность к кобальту. Так, проявления интоксикации не наблюдаются у человека и крыс при поступлении его водорастворимых солей в дозах соответственно 7 и 200 мг/кг в сутки [Забродский П.Ф., 1998].

Механизм токсического действия связан с блокированием синтеза гемоглобина (ингибирование абсорбции железа), нарушением тканевого дыхания, инактивацией α-кетоглутаратдегидрогеназы, пируватдегидрогеназы и других оксидаз, взаимодействием с тиоловыми группами липоевой кислоты. При внутривенных инъекциях нерастворимые соединения кобальта фагоцитируются макрофагами. Большие дозы вызывают развитие полицитемии [Забродский П.Ф., 1998].

При концентрации 10-100 мкМ in vitro в течение 5 сут дихлорид кобальта снижает Т-зависимое антителообразование к ЭБ у мышей на 35-49%, доза 1мкМ в течение 1 ч не влияет на хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов [Ward P.A. et al., 1975], снижает НРО к вирусной инфекции [Cainer I.H., Pry T.W., 1972]. Данное соединение обладает аллергическими свойствами [Vredovoe D. et al., 1985]. Концентрация 35 мМ хлорида кобальта угнетает иммунный ответ у тимоцитов человека. Соли кобальта являются контактными аллергенами, у них отмечаются выраженные сенсибилизирующие свойства. При контакте с кобальтом могут развиваться приступы бронхиальной астмы [Забродский П.Ф., 1998].

Таким образом, соли кобальта в больших дозах снижают доиммунные факторы защиты организма, гуморальный иммунный ответ, клеточные иммунные реакции, а также вызывают аллергические реакции.

9.9. Магний

Элементный магний широко применяется в различных областях промышленности и сельском хозяйстве. В организме человека содержится около 19 г магния. Естественная потребность составляет 0,3 г. Является необходимым микроэлементом. Необходим для функционирования клетки, катализирует ряд ферментов, стабилизирует ДНК. Для крыс при внутрибрюшинном введении пороговая токсическая доза хлористого магния составляет 225 мг/кг [Забродский П.Ф., 1998].

Механизм токсического действия магния, как антагониста кальция, при больших дозах связан с подавлением активности ЦНС и нейромышечных синапсов. Снижается выход ацетилхолина из постсинаптической мембраны нервных волокон иннервирующих мышц, а также в синапсах вегетативных ганглиев. При внутривенной инъекции действует как анестетик общего действия. Сульфат магния, введенный в желудочно-кишечный тракт, оказывает слабительное действие вследствие медленного всасывания и создания высокого осмотического давления. Длительное применение данного соединения может вызывать снижение активности гладких мышц кишечника и внутренних органов вплоть до смертельных отравлений [Забродский П.Ф., 1998].

Дефицит магния в пище приводит к нарушениям гуморального иммунного ответа, снижению IgG1, IgG2, IgM и IgA у мышей [63]. В дозе 40 мг/кг в течение 3 сут сульфат магния не влиял на летальность при экспериментальной инфекции у мышей [Sword C.P., 1966]. Повышение уровня магния в сыворотке крови приводит к снижению IgG у больных с рецидивирующими бактериальными инфекциями [Булатова И.В. и соавт., 1994].

9.10. Марганец

В организме человека содержится около 12 мг марганца. Марганец является необходимым элементом для роста, сохранения репродуктивной функции, образования костей, метаболизма глюкозы и липидов, для активации пируватдегидрогеназы, аргеназы, фосфотаз, биосинтетических ферментов. Биологическая роль марганца была установлена в 1931 году. Необходимая доза для человека - 2-9 мг/сут [Забродский П.Ф., 1998].

Отравление металлическим марганцем и его солями происходит при вдыхании воздуха вблизи промышленных предприятий. Содержание этого элемента в пыли городских автомагистралей достигает 243 мг/кг [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Марганец наименее токсичный элемент из необходимых металлов. Перманганаты марганца обладают более высокой токсичностью по сравнению с ионами марганца вследствие их хорошей растворимости и высокой окисляющей способности. $ЛД_{50}$ перманганата калия для крыс составляет 7 мМ/кг. Перманганаты особенно токсичны при внутривенном введении ($ЛД_{100}$ - 0,99 мМ/кг для кролика). На пероральную токсичность влияет анион. Цитрат в связи с высокой комплексообразующей способностью (лучшей всасываемостью) более токсичен, чем хлорид или сульфат. Механизмы токсичности связаны с потерей конкурента кальция, уменьшением абсорбции и метаболизма железа (марганец антагонист железа), что приводит к снижению синтеза гемоглобина. Марганец в больших дозах изменяет метаболизм глюкозы. Однократное внутрибрюшинное введение в дозе 4 мг/кг приводит к снижению активности гликогенфосфорилазы, лактатдегидрогеназы, гексокиназы, что свидетельствует о прямом влиянии на гликолиз. Ферменты, контролирующие этот процесс, активируются марганцем в малых концентрациях и инактивируются в больших. Марганец ингибирует дыхательные ферменты в митохондриях [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Марганец при концентрациях 1 мкМ и 0,1 Мм (in vitro в течении 5 сут) снижает у мышей Т-зависимый гуморальный иммунный ответ на ЭБ на 53% и 84%. У морских свинок при концентрации хлорида марганца 13 мМ (in vitro, 18 ч) отмечается снижение в 2 раза продукции макрофагами фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов. При концентрации в воздухе оксида марганца, составляющей 109 мг/м2 (экспозиция - 3 ч в день, 3-4 сут), значительно снижается устойчивость у мышей к экспериментальной инфекции. Однократное поступление в организм мышей хлорида марганца в дозе 40 -120 мг/кг вызывает увеличение активности естественных киллеров на 20-100%. Свойств контактных аллергенов у солей марганца не выявлено [Забродский П.Ф., 1998].

Таким образом, соли марганца в дозах, значительно превышающих суточную потребность (до 500 раз), снижая гуморальные и клеточные иммунные реакции, способны повышать активность естественных киллеров.

9.11. Медь

Медь в больших количествах присутствует в животных и растительных тканях: в растениях - до 20 мг/кг сухой массы, в водорослях - до 68, рыбе - до 15, в мышечной ткани млекопитающих - до 10, в костях - до 26 мг/кг. Особенно богаты медью печень, какао и красное вино. Ежедневная потребность человека в меди составляет 2-5 мг. В организме человека содержится до 100 мг меди. Медь необходима для функционирования ряда ферментов: тирозиназы, моноаминоксидазы, церуллоплазмина, цитохрома а3 и др. Недостаток меди вызывает анемию, атаксию, замедление роста, нарушения в костной ткани, сердечно-сосудистую недостаточность, патологию желудочно-кишечного тракта. У человека с генетически детерминированным дефицитом меди (болезнь Мениеса) и у экспериментальных животных при недостаточности меди в пищевом рационе выявлены существенные иммунные изменения, а также повышенная частота инфекционных процессов [Pvohaska J.R., Lukasewycz O.A., 1981]. Человек легко переносит концентрации меди до 250 ppm. Только очень высокие дозы (более 0,02 г/кг) вызывают у людей тошноту, понос, рвоту, а в тяжелых случаях - судороги и смерть. Пыль меди вызывает отек слизистых оболочек носа [Забродский П.Ф., 1998]. При хроническом воздействии меди возможно ее отложение в легких, вызывающее фиброз и малигнезацию. $ЛД_{50}$ при пероральном введении составляет (мМ/кг) для Cu_2O - 6,6; CuO-8,9; $CuCl_2$ - 10,4; $Cu(NO_3)_2$ $2H_2O$ - 3,9; $Cu(CH_3COO)_2$ H_2O - 3,5; $CuSO_4$ $5H_2O$ - 3,8. Соединения меди применяют как фунгициды и инсектициды. Отравления связаны с их попаданием в организм через рот, путем вдыхания порошка металла, заглатывания медьсодержащих растворов, в результате употребления кислотных химикатов, хранящихся в медной таре или протекающих по трубам из медьсодержащего материала. ВОЗ рекомендует содержание меди в воде 0,05 ppm. Твердые оксиды (Cu_2O_4 и CuO) менее токсичны, чем растворимые соли [Venugopal B., Luckey T.D., 1978].

Механизмы токсичности связаны с повышением клеточной проницаемости эритроцитов вследствие взаимодействия с их сульфгидрильными группами, ингибированием глутатионредуктазы, снижением восстановленного глютатиона, агглютинацией эритроцитов, избыточным стимулированием гексозомонофосфатного

шунта. Медь обладает селенантагонистическими свойствами (вызывает дефицит селена в больших дозах) [Забродский П.Ф., 1998].

Как уже отмечалось, недостаток меди в рационе грызунов приводит к снижению гуморального и клеточного иммунных ответов [Pvohaska J.R., Lukasewycz O.A., 1981]. При этом возникает существенное снижение Т-хелперов, функциональной активности Т- и В-клеток [Lukasewycz O.F. et al., 1985]. При концентрациях хлорида меди 1-100 мкМ (in vitro, 5 суток) происходит снижение Т-зависимого гуморального иммунного ответа на 34-63%, концентрация 1мМ данного соединения снижает хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов в 2 раза. Соли меди проявляют себя как контактные аллергены. Показано, что сульфат меди в концентрации 1мМ подавляет пролиферацию Т-клеток под влиянием ФГА, при концентрации 10 мкМ данная реакция усиливается, а при концентрациях 0,1-0,001 мкМ эффект отсутствует. Синтез ИЛ-2 в Т-клетках человека ингибировался всеми исследованными дозами. Полученные данные свидетельствуют о прямом токсическом эффекте меди на активацию Т-клеток [Забродский П.Ф., 1998; Kuchars E.T. Sierakowski S.J., 1988]. Установлено ингибирование солями меди секреции ИЛ-1b лейкоцитами крови у здоровых доноров и увеличение мРНК фактора некроза опухоли [Scuderi P., 1990]. Избыток меди в сыворотке крови приводит к снижению содержания IgA и IgG в слюне у часто болеющих детей [Булатова И.В. и соавт., 1994].

Таким образом, медь принимает участие в обеспечении иммунного гомеостаза, большие дозы данного элемента или его солей супрессируют Т-зависимый иммунный ответ, снижают синтез ИЛ-1, ИЛ-2 и хемотаксис лейкоцитов.

9.12. Мышьяк

Отравление мышьяком происходит при применении медикаментов, употреблении пищи и воды, содержащих данный элемент, вдыхании его соединений в производственных условиях, действии отравляющих веществ, содержащих мышьяк (люизит, адамсит) и продуктов, образующихся при их уничтожении. В большинстве продуктов присутствие мышьяка объясняется широким использованием его в сельскохозяйственной химии в качестве родентицидов, инсектицидов, фунгицидов, древесных консервантов, стерилизаторов почвы. Мышьяк применяют в производстве стекла, красителей, полупроводников. Как лекарственное средство, соединения мышьяка

известны в течение 2000 лет. На Тайване описано эндемическое поражение сосудов нижних конечностей, связанное с повышенным содержанием мышьяка в питьевой воде. В этой же популяции отмечается генерализованный атеросклероз, увеличение частоты опухолей легких, кожи, печени, мочевого пузыря и почек [Забродский П.Ф., 1998]. Доза трехвалентного мышьяка, составляющая 1 мг/кг, является минимальной смертельной для человека [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Как уже упоминалось в разделе 6.1., трехвалентные соединения мышьяка являются тиоловыми ядами, ингибируют дегидролипоевую кислоту, кофермент А, нарушая цикл трикарбоновых кислот. Инактивация кетоглутаратдегидрогеназы приводит к нарушению синтеза лимонной и щавелево-уксусной кислот, а блокирование ДНК-полимеразы - к изменению синтеза и распариванию ДНК. Токсичные эффекты соединений мышьяка связаны также с ингибированием моноаминооксидазы, уреазы, пируватоксидазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, фумаразы. Мышьяк контактирует с фосфатами в процессе окислительного фосфорилирования, нарушает образование АТФ из АДФ, являясь разобщителем фосфорилирования и окисления [Забродский П.Ф., 1998].

Очевидно, что описанные механизмы токсичности способны вызывать выраженные иммунотоксические эффекты. Вероятно, эти эффекты определяют канцерогенные свойства соединений мышьяка. В опытах на мышах установлено снижение Т-зависимого первичного и вторичного иммунных ответов в 2-5 раз к эритроцитам барана при хронической пероральной интоксикации мышьяком (поступление мышьяковистого натрия в течение трех недель в дозах от 0,5 до 10 ppm). Арсениты при концентрации 2-4 мМ увеличивают пролиферацию Т-клеток теленка под влиянием ФГА (инкубация 3 сут) и снижают данную реакцию при концентрациях 8 и 10 мМ. Аналогичные данные получены и на Т-лимфоцитах человека [McCabe M.J. et al., 1983]. Установлено снижение антиинфекционной и противоопухолевой резистентности при острой и хронической интоксикации соединениями мышьяка мышей различных линий. Мышьяковистый галлий (2,5-200 мг/кг, однократно) уменьшает число антителообразующих клеток (АОК) к эритроцитам барана в селезенке мышей, ослабляет способность к презентации антигена премированными эритроцитами барана макрофагами популяции Т-клеток. При этом супрессия антителообразования не связана с

процессингом антигена макрофагами и продукцией этими клетками ИЛ-1 [Забродский П.Ф., 1998]. Снижение АОК к тимуснезависимому антигену динитрофенил-фиколлу наблюдали при введении мышьяковистого галлия в дозах 100-200 мг/кг. При этом максимальная доза снижала число АОК в селезенке на 54%, а также число Т-клеток, В-лимфоцитов и макрофагов. Супрессия антителообразования была прямо связана с уменьшением количества макрофагов в селезенке мышей [Sikorski E.E. et al., 1991].

Таким образом, трехвалентные соединения мышьяка вызывают редукцию показателей НРО и системы иммунитета.

9.13. Никель

В организме взрослого человека содержится около 10 мг никеля, причем 18% от этого количества находится в коже. Накопления никеля в организме с возрастом не наблюдается. Ежедневное потребление составляет 0,3-0,6 мг в основном с растительной пищей. Биологическая роль никеля установлена в 1974 г. Молекула уреазы, катализирующая гидролитическое расщепление мочевины на аммиак и углекислый газ, содержит два атома никеля.

Индустриализация приводит к загрязнению атмосферы никелем, повышает вероятность отравления им. В атмосфере больших городов содержание никеля в несколько раз превышает таковое в сельской местности и составляет 0,15-0,16 мкг/м3. Концентрация данного элемента в пыли дорог равна 19,9 мг/кг [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

При подкожном введении кроликам сульфата никеля $ЛД_{100}$ составляет 1,9 мМ/кг. Никель – канцерогенный элемент, обладающий выраженными аллергическими свойствами, обусловливающими, в частности, контактный дерматит. Канцерогенный эффект никеля связан с изменением свойств ДНК и РНК при комплексообразовании. Механизм токсичности обусловлен ингибированием окислительных ферментов вследствие переменной степени окисления у этого элемента, а также ацетилхолинэстеразы [Забродский П.Ф., 1998].

Никель проявляет кардиотоксический эффект, нарушает функцию почек, обладает иммунотоксичностью [Нибоер Э.И. соавт., 1993]. Хлорид никеля в однократной дозе 27,5 мг/кг снижает массу тимуса и селезенки, причем снижение массы тимуса отмечается и при дозе, составляющей 18,3 мг/кг. При этом отмечается уменьшение Т-зависимого гуморального иммунного ответа к ЭБ на 60-80%.

Аналогичные результаты получены и при меньших однократных дозах (8-12 мг/кг), которые вызывали супрессию иммунной реакции на 15-20%, при исследовании иммунотоксичности сульфата никеля (мыши, 3-12 мг/кг, однократно). Исследованные дозы не влияли на Т-независимый гуморальный иммунный ответ и пролиферацию В-лимфоцитов. Повышение гуморального иммунного ответа в 2,2 раза хлорид никеля вызывал при концентрации 0,1 мМ in vitro при инкубации клеток мышей в течение 5 сут, а также при вдыхании мышами аэрозоля данного соединения 2 ч в концентрации 200-500 мг/м^3. В то же время сульфат никеля при поступлении в течение 6 месяцев с питьевой водой в организм мышей ослаблял бласттрансформацию В-клеток, уменьшал численность клеток в костном мозге и супрессировал пролиферацию клеток-предшественников гранулоцитов и макрофагов [Забродский П.Ф., 1998; Dieter M.P., Jameson C.W., Tucker A.N. et al. , 1986].

При изучении действия хлорида никеля (9-36 мг/кг) на клеточные иммунные реакции установлено снижение пролиферации Т-лимфоцитов мышей на 20-75% под влиянием ФГА и КоА в острых опытах. При этом митоген лаконоса при действии хлорида никеля в дозе 7,3 мг/кг (однократно) увеличивал пролиферацию Т-клеток на 30%. Никель in vitro при концентрации 10^{-6}-10^{-8} М стимулировал бласттрансформацию Т-лимфоцитов человека, а при концентрации 10^{-4} - 10^{-6} М подавлял ее. Металл обладал способностью проникать в клетку, либо прикрепляться к ее мембране [Borella P. et al., 1990]. Стимуляция синтеза ДНК обнаружена у детей при использовании тимоцитов, полученных при операциях на сердце [Nordlind K., Henze A. , 1984].

На фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей хлорид никеля при концентрации 20 мг/мл in vitro в течение 20 ч оказывал супрессирующее действие, снижая их функцию в 2 раза. В дозе 18,3 мг/кг (однократно) у мышей изменение данной реакции не отмечалось. Не установлено снижение хемотаксиса лейкоцитов при концентрации хлорида никеля 1 мМ in vitro (инкубация - 1 ч). В дозе 18 мг/кг при острой интоксикации данное соединение снижало резистентность к развитию клеток меланомы у мышей, а в дозах 9-27 мг/кг - активность естественных киллеров [Забродский П.Ф., 1998].

Установлены выраженные свойства контактного аллергена у сульфата никеля в опытах на морских свинках [Maurer T. et al., 1979].

У людей соли никеля вызывают аллергическую экзему, сопровождающуюся изменением реакции торможения миграции

лейкоцитов и бронхиальной астмой. Интересно отметить, что увеличение количества случаев контактной аллергии к никелю в последнее десятилетие связано с ношением сережек из этого металла. Контакт кожи с детергентами усиливает проникновение ионов. Никель может вызывать нарушения в хромосомах лимфоцитов наряду с другими тяжелыми металлами [Забродский П.Ф., 1998].

Таким образом, соли никеля в больших дозах снижают НРО, функцию Т-клеток и естественных киллеров, Т-зависимое антителообразование. Металл вызывает аллергические реакции (контактный дерматит), обладает канцерогенным эффектом. В меньшей степени выражено снижение функции В-клеток, возможна при малых концентрациях (дозах) стимуляция Т-лимфоцитов.

9.14. Олово

В организме взрослого человека содержится 17 мг олова. Оно является примесным микроэлементом. Поступление олова в организм человека колеблется в пределах 0,2-17 мг; при этом всасывается из желудочно-кишечного тракта 0,02-0,2 мг. Физиологическая норма в разных тканях составляет 1-10 мкМ. Элементное олово и его соединения широко используются в промышленности и сельском хозяйстве. Отравления оловом носят случайный характер. Трибутилолово вошло в мировую практику с 1960 г в красителях для парусов судов против их поражения возбудителями, что привело к увеличению его содержания в воде, донных отложениях и морских организмах в концентрациях более 100 мг/л, при этом у рыб и беспозвоночных накопление олова в 3000 раз превышает его содержание в воде. Многие европейские страны и США законодательно ограничили содержание трибутилолова в красителях [Забродский П.Ф., 1998 Cardwell R.D. et al., 1989].

При поступлении соединений олова с фруктами в концентрации 1,4 г/л возникают желудочно-кишечные расстройства. ЛД50 дихлорида и тетрахлорида олова для мышей при внутрибрюшинном введении приблизительно одинаковы и составляют 20-26 мг/кг [Забродский П.Ф., 1998].

Механизмы токсичности соединений олова связаны с ингибированием ферментов синтеза гема, вследствие взаимодействия с сульфгидрильными группами аминолевулинатдегидротазы. Кроме того, ингибируются глутатионредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа и сукцинатдегидрогеназа

[Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Отравление оловом сопровождается анемией вследствие снижения эритропоэза.

Соединения олова обладают выраженными иммунотоксичными свойствами. Снижение массы тимуса, селезенки и лимфоузлов у крыс и мышей при остром хроническом воздействии вызывают диэтилдихлорид, дипентилдихлорид, дипропилдихлорид, дигептилдихлорид, трибутилолово и другие соли этого металла [Забродский П.Ф., 1998; Henninghausen G., Lange P., 1980].

Супрессия фагоцитарной активности нейтрофилов и перитонеальных макрофагов мышей in vitro отмечалась у диэтилдихлорида (6 мкг/мл), диметилдихлорида (50 мкг/мл), диметилдихлорида (0,12 мкг/мл), диоэтилдихлорида (2,2 мкг/мл), дипропилдихлорида (0,09 мкг/мл) и других солей этого металла. Соединения олова снижают Т-зависимый гуморальный иммунный ответ у мышей при острой и хронической интоксикации, пролиферацию Т-лимфоцитов крыс под влиянием митогенов, реакцию ГЗТ на туберкулин и овоальбумин у крыс, лимфоцитов в крови, пролиферации В-лимфоцитов крыс под влиянием липополисахарида, IgG в сыворотке крови крыс, устойчивость животных к экспериментальной инфекции [Забродский П.Ф., 1998; Vos I.G. et al., 1989].

Различные соли олова увеличивают время отторжения кожного аллотрансплантата, что свидетельствует о снижении клеточного иммунитета. В то же время диметилдихлорид олова увеличивает реакцию ГЗТ у крыс на ЭБ, трибутилоксид олова (80-320 мг/кг, per os, 4 нед.) повышает в сыворотке крови крыс содержание IgM [Забродский П.Ф., 1998; Krajnc E.L. et al. , 1984].

У крыс после однократного внутрижелудочного введения дибутилдихлорида олова в дозах 10-15 мкг/кг через 4-5 дней снижалась масса тимуса, уменьшалось количество малых лимфоцитов коркового вещества. При этом наибольшая антипролиферативная активность данного соединения отмечалась по отношению к клеткам с фенотипом $СД4^{+}$ $СД8^{+}$, репопуляционные изменения начинались с действия на некоторые незрелые субпопуляции, вероятно, в результате ингибирования тиоловых энзимов тимоцитов [Забродский П.Ф., 1998]. Под влиянием дибутилдихлорида олова происходит усиление захвата кальция малыми тимоцитами, нарушается межклеточные взаимодействия и/или процессы трансдукции сигнала, опосредуемого этими клетками, снижется количество Т-клеток,

связанных с эпителиальными клетками тимуса [Robinson C.J.G. et al. , 1984].

В механизме иммунотоксического действия диалкилолова рассматривают селективное действие его на ткань тимуса, опосредованное через эндокринный контроль и ретикулярные эпителиальные клетки и непосредственное действие на быстроделящиеся тимоциты. Инактивация дитиоловых энзимов приводит к нарушению клеточной пролиферации [Penninks A.H., Seinen W. , 1984].

При остром действии на крыс диоктилдихлорида олова изменения в селезенке и снижение синтеза IgM и IgG отмечались при дозе более высокой, чем доза, вызывающая атрофию тимуса. In vitro и in vivo трибутилоксид олова вызывал торможение пролиферации Т-клеток под влиянием ФГА, связанных с ингибированием экспрессии мРНК ИЛ-1 и рецептора ИЛ-2, отмечалось также торможение экспрессии мРНК сериновой протеазы цитотоксических Т-лимфоцитов [Забродский П.Ф., 1998].

Таким образом, соединения олова снижают НРО, гуморальный и особенно клеточный иммунитет. Некоторые соли способны проявлять стимулирующее действие на синтез IgM (в продукции которых, в отличие от синтеза IgG, Т-хелперы не играют значительной роли).

9.15. Ртуть

В организме человека содержится около 13 мг ртути, причем около 70% - в жировой и мышечной тканях. Ртуть не является необходимым элементом для человека. Вместе с тем, показано, что при низких концентрация (1 мкг/г) в питьевой воде она стимулирует, а при высоких (3 мкг/г) – задерживает рост мышей [Забродский П.Ф., 1998; Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Основной источник поступления ртути в окружающую среду - испарения из земной коры в количестве 25-125 тыс. тонн ежегодно. Ртуть широко используется в химическом производстве для получения хлора, щелочей, в амальгамной металлургии, электротехнической промышленности, медицине (производство фармацевтических препаратов) и стоматологии. Каломель (Hg_2Cl_2) применяется в качестве антисептика, раствор сулемы (ртути дихлорид) – для дезинфекции. Ртутная серная мазь (содержит 30% металлической ртути) применяется для лечения кожных заболеваний и сифилиса; оксицианид, амидохлорид, белая ртутная мазь (ртути

амидохлорид) – в качестве антисептических и противовоспалительных средств [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Для человека представляет опасность потребление в пищу некоторых видов рыб и моллюсков вследствие высокого содержания в них метилртути, образующейся в результате жизнедеятельности бактерий. Фунгициды, изготовленные на основе алкилированных соединений ртути, используемые для протравливания семян, являются источником поступления ртути в организм с пищей. Токсичность соединений ртути зависит от степени ионности химических связей. $ЛД_{50}$ сульфата ртути для крыс при пероральном введении составляет 192 М/кг, а для дихлорида ртути – 136 М/кг. Каломель – наиболее известная соль ртути, ее низкая токсичность обусловлена малой растворимостью в воде [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Venugopal B., Luckey T.D., 1978].

Механизмы токсичности ртути связаны с инактивацией тиоловых ферментов и нарушением транспорта натрия и калия через мембраны. Ртуть является нейротоксикантом, ее соли могут вызывать гломерулонефрит, в механизме развития которого существенную роль играет образование аутоиммунных комплексов [Забродский П.Ф., 1998].

Хлорид ртути в дозах 3-75 ppm при пероральном поступлении в течение 7 нед. вызывает у мышей снижение массы тимуса и селезенки, уменьшение содержания в крови лимфоцитов (минимальная доза этот показатель увеличивает на 57%). Гуморальный иммунный ответ к эритроцитам барана при поступлении в организм цыплят хлорида ртути перорально в течение 11 недель в дозе 300 мкг/кг уменьшался при исследовании содержания IgG на 22% и IgM - на 40%. Т-независимый иммунный ответ у мышей (75 ppm, per os, 7 нед) не изменялся, пролиферация В-лимфоцитов под влиянием липополисахарида уменьшалась на 89%, а Т-лимфоцитов (ФГА, КоА) на 51-53%. Установлено образование у мышей (0,5 мг/кг, подкожно, 5 сут) антиядерных аутоантител, антител к тканям базальной мембраны ренальных клубочков, иммуноглобулинам, ДНК, миелопероксидазе, отложение IgG вдоль сосудов клубочков, повышение содержания IgE в сыворотки крови. У морских свинок отмечались проявления контактной аллергической реакции. Метилртуть (10 ppm, per os, 10 нед) вызывает у кроликов снижение в 2 раза первичного и вторичного Т-зависимых иммунных ответов, такие же результаты получены в опытах на мышах. Следует отметить возможность повышения первичного и вторичного гуморальных иммунных ответов под

влиянием метилртути (5 ppm, per os, 10 нед).

Ртуть вызывает снижение НРО. Добавление хлорида ртути в культуральную среду со спленоцитами мышей приводило к усилению экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости класса I, причем этот эффект был значительно ниже после удаления Т-лимфоцитов. Блокирующие антитела к ИЛ-4 полностью ингибировали действие хлорида ртути на спленоциты, что доказывает возможность реализации аутоиммунного и аллергенного эффектов данного соединения через индукцию синтеза ИЛ-4 Т-лимфоцитами селезенки [Забродский П.Ф., 1998; Descotes J., 1986; Vliet E. et al. , 1990].

Установлено, что аутоиммунный гломерулонефрит у крыс возникает в результате поликлональной Т-зависимой активации В-лимфоцитов. У разных линий мышей хлорид ртути вызывает предпочтительную активацию Th1-лимфоцитов (линия DBA12), Th2-лимфоцитов (линия ASW). При этом Th1-лимфоциты вызывают усиление реакции гиперчувствительности IV типа (контактный дерматит), а Th2-клетки индуцируют продукцию IgE и IgG1, опосредуемую ИЛ-4 [Stinger C.P. et al., 1990; Ройт А. и соавт., 2000], и участвуют в формировании гиперчувствтительности I типа (анафилактические и аллергические реакции). Иммунная система наиболее сильно подвержена влиянию ртути у мышей C57BL/6, что проявляется увеличением числа ядросодержащих клеток в селезенке, повышением в сыворотке крови IgE, образованием антиядерных антител, двухфазной модуляцией гуморального ответа к ЭБ. Частично восприимчивость мышей к ртути связана с токсикокинетикой этого элемента. Так, у мышей C57BL/6 концентрация ртути в крови, печени и почках была в 3 раза ниже, чем у мышей резистентной линии DBA/2 [Stiller-Winkler R. et al., 1988]. Показано, что у крыс, получавших хлорид ртути (1 мг/кг, 3 раза в неделю, подкожно) увеличивается сывороточная концентрация IgM, IgG1, IgG2, IgA и особенно IgE, что связано с поликлональной активацией В-клеток. С 7-го по 14-й день отмечалось временное возрастание в селезенке числа В-клеток, Т-клеток, Т-хелперов, Т-супрессоров. Эти изменения сопровождались атрофией тимуса и аутоиммунными расстройствами [Pelletier L. et al., 1988]. У чувствительных линий мышей и крыс ртуть вызывает аутоиммунные заболевания: гломерулонефрит, системный васкулит, синдром Sjogren'a [Druet P., 1993]. Установлена роль генотипа в развитии аутоиммунных эффектов у крыс [Kosuda L.L., et al., 1994].

Морфологические изменения лимфоцитов под влиянием метилртути (мыши, 10 мг/кг, однократно, внутрибрюшинно)

заключались в повреждениях системы микротрубочек (фрагментация, а затем исчезновение), которые были особенно выражены у лимфоцитов, не стимулированных митогеном [Reuhl K. R., et al., 1986]. Гепатоксический эффект в лимфоцитах человека выражается в возникновении хромосомных аберраций.

При исследовании активности некоторых иммунологических показателей у крысят, матери которых в период беременности и/или вскармливая получали вместе с пищей метилртуть в дозе 3,9 мкг/кг корма, у потомства выявлено усиление пролиферативного ответа Т-лимфоцитов па митоген в клетках тимуса и особенно в спленоцитах. Снижение активности данной реакции наблюдали только среди животных, чьи матери подвергались воздействию метилртути в период кормления. Естественная киллерная активность была снижена в группе крысят, чьи матери подвергались контакту с ртутью в период беременности и последующего кормления [Iback Nils-Gunnar et al., 1991].

Под влиянием хлорида ртути (in vitro, 10-5 М) отмечалось подавление миграции полиморфонуклеаров человека и супрессия миграции мононуклеаров ($6{,}67 \cdot 10^{-5}$ М), уменьшение числа клеток в среде на 15%. Установлено стимулирующее влияние паров ртути на гуморальный иммунный ответ (IgM, IgA), синтез 2-2 макроглобулина и церуллоплазмин) у лиц, связанных с профессиональным воздействием данного элемента. Увеличение содержания IgA и IgG в сыворотке крови наблюдали у лиц со стажем работы более 20 лет [Забродский П.Ф., 1998; Bartus R. et al., 1988].

Установлено связывание ртути с ядерными белками Т-лимфоцитов периферической крови человека. Описано также подавление соединениями ртути В-звена иммунитета. Так, изменение функции и жизнеспособности В-клеток человека под влиянием хлорида ртути и хлорида метилртути сопровождается снижением их бластогенной активности, подавлением экспрессии рецептора трансферрина и низкоаффинного рецептора IgE, гибели клеток при инкубации с ядами в течение 24 ч, увеличением содержания хроматина в ядрах, их фрагментации и конденсации нуклеоплазмы, повышением концентрации кальция в клетках. При этом иммунотоксический эффект хлорида метилртути был 5-10 раз более выражен, чем у хлорида ртути [Забродский П.Ф., 1998].

При обследовании 70 рабочих, подверженных воздействию паров металлической ртути, установлено увеличение массы тела за счет увеличения массы подкожной жировой клетчатки (в среднем на 21,6

кг), возрастание уровня заболеваемости по сравнению с интактными лицами [Richterova S., Richter J. , 1990]. Воздействие ртути может приводить у людей к контактному дерматиту, мембранному гломерулонефриту [Druet P., 1993]. У лиц, сенсибилизированных к ртути, отмечается ослабление продукции макрофагами ИЛ-1 и α-фактора некроза опухоли [Langworth S. et al., 1993].

Токсическая предрасположенность к аутоиммунным реакциям при действии ртути обусловлена особенностями строения молекулы главного комплекса гистосовместимости и Т-клеточных рецепторов [Kosuda L.L. et al., 1994].

Таким образом, соединения ртути снижают НРО, функцию Т-клеток, макрофагов, Т-зависимый гуморальный иммунный ответ. Аутоиммунные и аллергические реакции зависят от генотипа и обусловлены активацией лимфоцитов Th1-типа (усиление клеточного иммунного ответа и связанной с ним кожной гиперчувствительности) или Th2-типа (повышение гуморального иммунного ответа – усиление синтеза IgG1, IgA, IgE В-лимфоцитами, реализация респираторных аллергических реакций).

9.16. Свинец

В организме человека содержится 120 мг свинца. Это токсичный элемент, поступающий в организм различными путями. Элементный свинец и его соединения широко применяются в промышленности и в повседневной жизни человека. Тетраэтилсвинец широко используется для увеличения октанового числа бензинов. Отравления происходят как в процессе профессиональной деятельности, так и в быту. Основные пути поступления - дыхательный тракт и кожа.

Токсикометрические характеристики соединений свинца для человека мало изучены. $ЛД_{50}$ ацетата свинца при внутрибрюшинном и внутривенном введении крысам составляет 145 мг/кг. Механизмы токсического действия свинца связаны с блокированием тиоловых ферментов, лактатдегидрогеназы, взаимодействием с карбоксильными и фосфатными группами биополимеров, нуклеатидами, особенно цитидином, инактивацией эстераз. Свинец ингибирует в костном мозге ряд ферментов, определяющих синтез гема. В результате возникает снижение его синтеза, формируется свинцовая анемия (плюмбизм). Гепатотоксичность свинца связана с накоплением его в митохондриях (85%), эндоплазматическом ретикулуме, лизосомах, ядре (5%), 8% связано с фосфолипидами, белками, АТФ и другими

компонентами цитозоля. Свинец изменяет проницаемость мембран, блокируя кальциевые каналы. Связь свинца с сульфгидрильными, фосфатными и карбоксильными группами мембраны увеличивает ее жесткость и снижает устойчивость к осмотическому шоку [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Venugopal B., Luckey T.D., 1978].

Аномальные изменения эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта вызывают гастро-интестинальный синдром свинцовой интоксикации. Повреждая мембраны, свинец вызывает энцефалопатию, судороги. Метаболизм свинца в организме в значительной степени определяется взаимодействием его с костной тканью. Уровень свинца в костях коррегирует с частотой развития нефропатии. Свинец изменяет эритропоэтические клетки, увеличивая продукцию аномальных эритроцитов [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Влияние ацетата свинца на гуморальный и клеточный иммунные ответы определяется снижением синтеза IgG (25-50 ppm, per os, 10 недель в пре- и постнатальном периодах у крыс), Т-зависимого иммунного ответа к ЭБ у мышей и крыс, увеличением функции В-клеток в реакции розеткообразования (130, 130 ppm, per os, 10 лет) у мышей, реакции ГЗТ (1,25-10 мг/кг, внутрибрюшинно, 30 сут) у мышей, пролиферации Т-лимфоцитов (9,68 мМ, per os, 30 сут, ФГА, мыши), фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов (500 мг/кг, in vitro, 20 ч) мышей, снижением устойчивости крыс к инфекции (*S. enteritidis*), развитием анафилактической реакции на овоальбумин (0,5-2 мг/кг, подкожно, 3 сут). Супрессия ГЗТ у мышей (6 мг/кг, внутрибрюшинно, 5 сут) отмечалась при воздействии нитрата, карбоната и оксида свинца. Хлорид свинца (1 мкМ, in vitro, 1 сут) снижает у макрофагов морских свинок фактор, ингибирующий миграцию лейкоцитов. Тетраэтилсвинец у мышей (0,5-2 ppm, per os, 3 недели) снижал первичный и вторичный Т-зависимый гуморальный иммунные ответы к ЭБ у мышей. Нитрат свинца (мыши, 50 мг/кг, 6 сут, внутрибрюшинно) вызывал снижение антителопродукции к ЭБ при повторной иммунизации [Забродский П.Ф., 1998; . Descotes J., 1986; Tone K. et al., 1991].

В ряде экспериментов отмечалось под влиянием ацетата свинца увеличение Т-зависимого гуморального иммунного ответа к ЭБ (10 мкМ, in vitro, 5 сут) у мышей, пролиферации В-лимфоцитов под влиянием липополисахарида (0,1-100 мкМ, in vitro, 2-3 сут) у мышей [125,166], реакции ГЗТ (мыши, 6 мг/кг, внутрибрюшинно, 5 сут), пролиферации Т-лимфоцитов (мыши, ФГА, 10-100 мкМ, in vitro, 2 сут;

0,08-0,4 ppm, per os, 4 нед) [125], фагоцитарной активности макрофагов (мыши, 10-1000 мкг/кг, per os, 10 сут; 25-100 мкг/кг, однократно, per os). Следует отметить, что активация Т-лимфоцитов и макрофагов происходили при концентрациях и дозах ацетата свинца приблизительно в 5 раз меньших, чем содержание данного соединения, вызывающего супрессию иммунных реакций [Забродский П.Ф., 1998; Descotes J., 1986; Tone K. et al., 1991].

Повышение митогенного ответа мононуклеаров, освобождение метаболитов кислорода из нейтрофилов, усиление экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости класса II на Bola-клетках при хронической свинцовой интоксикации до 3 мес с формированием супрессии антителопродукции и митогениндуцированной клеточной цитотоксичности через 3 мес позволяет рассматривать свинец скорее как иммуномодулирующий, чем иммунотоксичный элемент [Dubowy M. et al., 1989]. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что у лиц перенесших отравления свинцом, при повторных случаях интоксикации отмечали подавление клеточного иммунитета и стимуляцию гуморальных иммунных реакций [Resteksamorzija N. et al., 1993]. Кроме того, установлено, что свинец проявляет активность В-клеточного стимулирующего типа путем усиления экспресии Ia и дифференцировки В-клеток (замещение хелперного эффекта) [McCabe M.J., et al., 1990]. При использовании клеточных клонов показано, что свинец усиливает активацию Th2-лимфоцитов и тормозит активацию Th1-клеток, при этом проявляется стимулирующее действие свинца на дифференцировку мышиных В-клеток [McCabe M.J., et al., 1991].

Окись свинца (in vitro, 72 ч) дозозависимо ослабляет секрецию фактора некроза опухоли (и его активность в отношении опухолевых клеток) альвеолярными макрофагами кролика, а также их жизнеспособность. Ацетат свинца ($2\text{-}7 \cdot 10^{-4}$ М, in vitro) блокировал синтез РНК спленоцитов крыс [Латушко Т.В., Барковский Е.В. , 1992].

У лиц, связанных с производственным воздействием свинца, отмечалось торможение миграции лейкоцитов, реакции розеткообразования и бласттрансформации лимфоцитов, повышение супрессорной активности Т-клеток, индуцированных КоА, снижение В-лимфоцитов, концентрации IgM и IgG в крови, ослабление противотифозной вакцинации. Ультраструктурный облик нейтрофилов при воздействии свинца напоминает строение этих клеток при острой лейкемии. Свинец вызывает аллергические

изменения слизистой оболочки верхних дыхательных путей у работающих, уменьшение Т-лимфоцитов (у 80%), Т-хелперов, увеличение В-лимфоцитов, IgA и IgM и снижение иммунных комплексов, способствует развитию новообразований [Забродский П.Ф., 1998 Horiguchi S. et al., 1992].

Умеренную стимуляцию продукции IgA, IgG, IgM и снижение Т-клеток и их бласттрансформации отмечают также другие авторы [Конксиди А.К., 1983].

Вероятно, умеренная стимуляция В-системы отмечается при действии малых доз свинца и коррелирует с формированием аллергических и аутоиммунных реакций.

Нами установлено [Забродский П.Ф. и соавт., 2003] (табл. 9.1), что Т-лимфоциты, выделенные из селезенки крыс, после острого воздействия тетраэтилсвинца (ТЭС) в дозе 0,75 $ЛД_{50}$ обладали сниженной антихолинэстеразной активностью по сравнению с контролем. Так, острое отравление ТЭС вызывало статистически значимое ($p<0,05$) уменьшение активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т-лимфоцитах селезенки в 1,45 раза.

Т а б л и ц а 9.1

Влияние ТЭС (0,75 ЛД50) на активность ацетилхолинэстеразы в Т-лимфоцитах спленоцитов крыс Вистар и Т-зависимые реакции системы иммунитета через 4 сут после острой интоксикации ТХВ (M+m, n =9-11)

Серии опытов	Селезенка, активность АХЭ, мЕД/10^9 клеток	АОК к ЭБ, 10^3	Реакция ГЗТ, %
Контроль	58,4±6,5	34,7±3,3	27,8±2,1
ТЭС	40,1± 3,8*	20,5±1,9*	16,4±1,5*

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Снижение активности АХЭ в Т-клетках и числа эстеразопозитивных клеток, характеризующих активность неспецифических эстераз в Т-лимфоцитах (и, в определенной степени, в моноцитах и макрофагах) селезенки, прямо связано с уровнем супрессии Т-зависимого антителообразования, а также со степенью редукции реакции ГЗТ. Так, число АОК к ЭБ при действии ТЭС через 4 сут существенно уменьшалось в 1,69 раза ($p<0,05$), а формирование ГЗТ – в 1,70 раза ($p<0,05$).

При оценке содержания эстеразопозитивных клеток (Т-клеток) в селезенке крыс установлено (рис. 9.1), что ТХЭ уменьшал их

относительное количество в этом органе, являющимся одним из основных продуцентов антител (иммуноглобулинов). Так, относительное содержание Т-клеток, содержащих α-нафтил-AS-ацетатэстеразу и -нафтилбутиратэстеразу, снижалось через 4 сут после острой интоксикации ТЭС соответственно в 1,25 и в 1,40 раза ($p<0,05$).

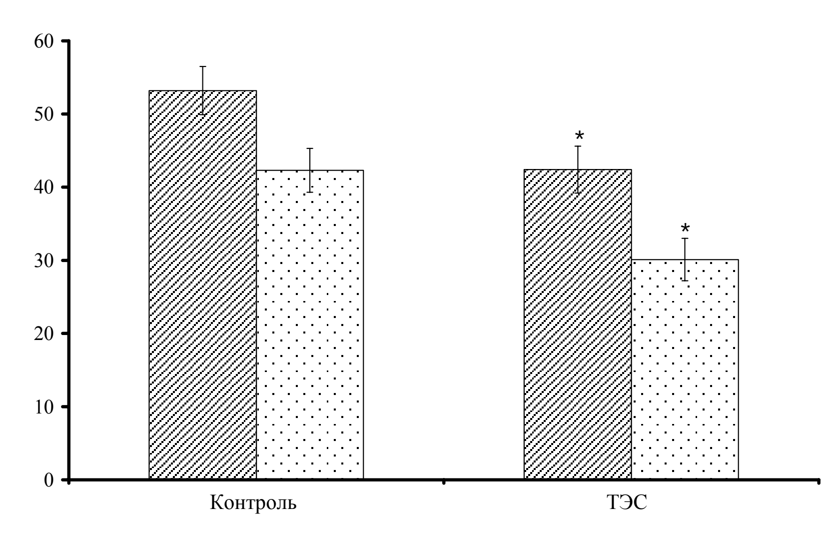


Рис. 9.1. Влияние острой интоксикации ТЭС (0,75 $ЛД_{50}$) на содержание α-нафтил-AS-ацетатэстеразопозитивных и α-нафтилбутиратэстеразопозитивных клеток в спленоцитах крыс Вистар (M±m, n=9-14):
▨ – содержание α-нафтил-AS-ацетатэстеразопозитив-ных клеток, % ; ⊡ – содержание α-нафтил-бутиратэстеразопози-тивных клеток,%;
* – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

Несомненно, что ингибирование АХЭ ТЭС имеет существенное значение в формировании постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. При этом Т-лимфоциты (в частности, Th1-клетки), возможно, существенно утрачивают свои функции, что приводит к снижению Т-зависимых иммунных реакций. Это можно объяснить избыточной стимуляцией ацетилхолином м- и н-холинорецепторов, наличие которых на Т-лимфоцитах доказано [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979]. В результате нарушается оптимальное соотношение цАМФ/цГМФ в иммуноцитах, необходимое для их пролиферации и дифференцировки [Ройт А. и

соавт., 2000]. Роль неспецифических эстераз в реализации Т-зависимых иммунных реакций, несмотря на давно доказанную возможность их ингибирования антихолинэстеразными соединениями [Ferluga J. et al., 1972], до сих пор не ясна. Можно предположить, что под влиянием эстераз происходят реакции, ведущие к активации ферментативных реакций, обеспечивающих реализацию функций Т-лимфоцитов. Безусловно, иммунотоксические свойства ТЭС обусловлены не только его антихолинэстеразным действием, существуют и другими механизмы, играющие роль в проявлении его иммунотоксическкго эффекта.

Данные литературы [Newcombe D.S., 1991] позволяют полагать, что ТЭС (как и ФОС), ингибируя активность эстераз в Т-лимфоцитах, а также в моноцитах, естественных клетках-киллерах, ослабляют иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые этими клетками. Инактивация эстераз иммунокомпетентных клеток, как уже упоминалось, инициирует процесс лимфомогенеза, подавляет иммунитет к вирусу Эпштейна-Барра и человеческому герпесвирусу-6, способствующим развитию лимфом.

Таким образом, при интоксикации ТЭС в сублетальной дозе происходит ингибирование ацетилхолинэстеразы и других эстераз Т-лимфоцитов, приводящее к супрессии Т-зависимых иммунных реакций.

Данные литературы и результаты собственных исследований свидетельствуют о том, что соединения свинца в токсичных дозах снижают НРО, функцию Т- и В-клеток. В ряде случаев свинец проявляет иммуномодулирующие свойства, которые при относительно невысоких дозах проявляются усилением функции прежде всего В-клеток, а также лимфоцитов Th2-типа.

9.17. Селен

Элементный селен и его соединения находят широкое применение в электронной промышленности, множительной технике, оптике, химической промышленности. В организме содержится 13 мг селена, ежедневное потребление этого элемента составляет от 60 до 330 мкг в зависимости от состава пищи и места жительства. Селен является существенным компонентом глютатионпероксидазы, являющейся антиоксидантным энзимом. Его действие реализуется совместно с витаминами, в частности, с витамином Е, предотвращающим свободнорадикальное окисление липидов мембран [Larsen H.J.S. et al.,

1993].

Из пищевых продуктов человек утилизирует около 80% селена. В производственных условиях летучие соединения селена могут всасываться через кожу. Токсикометрические параметры соединений селена для человека не установлены. Селениты находят применение в химиотерапии рака. Селениты и селенаты наиболее токсичны по сравнению с другими неорганическими солями. Для крыс $ЛД_{50}$ Na_2SeO_3 (селенит натрия) перорально и внутрибрюшинно составляют 7 мг/кг. $ЛД_{50}$ Na_2SeO_4 (селенат натрия) при внутрибрюшинном введении - 13,8 мг/кг [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Venugopal B., Luckey T.D., 1978].

Механизмы токсичности селена связаны с нарушением обмена серы в организме. Так, замещение сульфгидрильных групп селенгидрильными (SeH) в ряде ферментов приводит к ингибированию клеточного дыхания, снижению активности дегидрогеназ, блокированию цикла трикарбоновых кислот (взаимодействие селена с цистеином и коэнзимом А с образованием селентрисульфидных комплексов), метаболизма глутатиона. Образование селентрисульфидных комплексов приводит к изменению третичной структуры ферментов и нарушению их функционирования [Забродский П.Ф., 1998].

Селен с цинком, железом, медью и германием относят к иммуномодулирующим элементам [Kieffer F., 1989]. Описаны данные, свидетельствующие о том, что поступление селена с пищей предупреждает развитие опухолевых клеток. Не выявлено влияние селена на содержание IgA, IgG, IgM в крови людей (200 мкг, per os, в течение 11 недель), изменения пролиферации В-лимфоцитов под влиянием липополисахарида, Т-лимфоцитов под влиянием ФГА и КоА, фагоцитарной активности и переваривающей способности полиморфноядерных лейкоцитов. У мышей селен (1-3 ppm, per os, 10 недель и 0,5 мг/кг однократно) вызывал увеличение Т-зависимого гуморального иммунного ответа на ЭБ. У крыс в дозах 0,5 и 20 ppm при пероральном поступлении в течение 10 недель отмечалось увеличение в обратной зависимости от дозы активности естественных киллеров (соответственно на 42 и 21%). В дозе 5 ppm (экспозиция та же) активность этих клеток не изменялась. У морских свинок селен (17 мкМ, in vitro, 18 ч) снижал продукцию макрофагами фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов. Поступление в организм человека в течение 56 дней 100 мкг селенита натрия сопровождалось увеличением уровня Т-супрессоров и концентрации IgA в крови

[Забродский П.Ф., 1998; Herzfeld A. et al., 1989].

Анализ данных литературы показывает [Забродский П.Ф., 1998; Descotes J., 1986], что дефицит селена снижает устойчивость к бактериям и вирусам, ослабляет функциональную активность нейтрофилов, продукцию антител, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов при их митогенной стимуляции, а также функцию цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров. Умеренный избыток селена стимулирует функции нейтрофилов, продукцию иммуноглобулинов и лимфокинов, пролиферацию Т- и В-клеток в ответ на митогены, активность естественных киллеров, реакцию ГЗТ, отторжение трансплантатов, в том числе перевитых опухолей. Механизм иммунорегуляторного действия селена не ясен. Вероятно, иммунорегуляторные свойства селена связаны с его способностью оказывать влияние на активность глутатионпероксидазы, содержание в тканях восстановленного глютатиона, состояние мембран клеток. Ционат и тиоционат селена в дозах соответственно 4 мкг/кг и 96 мг/кг у морских свинок стимулировали антителообразование. Увеличение поступления данных соединений (тиоционата селена до 24 мкг/кг) вызывали снижение гуморального иммунного ответа к ЭБ [Kramer A. et al., 1984].

Способность селена усиливать пролиферацию Т-лимфоцитов на митогены, повышать пролиферацию ИЛ-2 лимфоцитами и ИЛ-1 макрофагами, ответ Т-лимфобластов на ИЛ-2 и тимоцитов на ИЛ-1 позволяет рассматривать его как иммуностимулятор. Селен повышает устойчивость животных к различным инфекциям [Wang R. et al., 1992].

На морских свинках показано, что при поступлении селена с питьевой водой в дозах более 3 мг/л отмечается усиление реакции ГЗТ на бихромат калия, миграционных свойств спленоцитов, ослабление пролиферации Т-лимфоцитов под влиянием ФГА [Jirova D., 1989].

Таким образом, повышая НРО, стимулируя гуморальные и клеточные иммунные реакции, соединения селена в больших дозах способны снижать показатели системы иммунитета.

9.18. Хром

Хром присутствует во всех почвах и растениях. Содержание хрома в пыли городских дорог составляет около 39 мг/кг, а в воздухе промышленных предприятий -0,01 мкг/м^3. В организме человека содержится около 6 мг хрома с концентрацией в тканях 0,02-0,04

мг/кг в расчете на сухую массу. С возрастом хром аккумулируется в легких, но в количествах, не опасных для здоровья. Концентрация хрома в пище очень низкая, не более 50 мкг/кг. В промышленности хром применяется для получения высокопрочных сталей, гальванических покрытий. Соли хрома используются в изобразительном искусстве и текстильной печати [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Забродский П.Ф., 1998].

Отравление хромом у людей происходит при попадании в организм хроматов через рот. Данные о токсичности хрома ограничены. На крыс при пероральном поступлении не действует лактат хрома в дозе 100 г/кг, кошки переносят комплексы трехвалентного хрома в дозе 0,2 г/кг. Хромкалиевые квасцы очень токсичны при инъекции, но малотоксичны при пероральном введении. Соединения шестивалентного хрома (хроматы, дихроматы) более токсичны, чем трехвалентные соединения. У мышей, получавших с водой 5 мг/л хроматов, наблюдалось замедление роста и образование множественных опухолей. У кошек при внутрижелудочном введении бихромата натрия (5 мг/кг в течение 1 мес, 1 г/кг - однократно) отмечались воспалительные, склеротические изменения слизистой с нарушением лимфоциркуляции [Мельникова К.В. и соавт., 1990]. ПДК для CrO_3 в воздухе промышленных помещений - 0,1 мг/м3.

Механизмы токсичности хроматов связаны с их проникновением внутрь клетки через мембрану и взаимодействием с нуклеиновыми кислотами. Трехвалентный хром через клеточные мембраны не проникает. Хроматы внутри клетки превращаются в трехвалентный хром, вызывая хромосомные аномалии. Нарушения нуклеинового обмена под влиянием хрома приводят к канцерогенным эффектам, наибольшей активностью при этом обладают хроматы и дихроматы. Хром необходим для процессов метаболизма углеводов с участием инсулина [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989; Забродский П.Ф., 1998].

Хром, особенно дихромат натрия, является вторым после никеля элементом, вызывающим контактную гиперчувствительность [3,55,147,188]. При этом реализуются механизмы, связанные как с действием самого хрома, так и с его конъюгатами с протеинами. Хром in vitro (мыши) при концентрации 10 мкМ в течение 5 суток на 48% уменьшает Т-зависимый иммунный ответ к эритроцитам барана, концентрации 0,1 мкМ - 1мМ в 2-4 раза повышают пролиферацию В-лимфоцитов мышей под влиянием липополисахарида. Бласттрансформация лимфоцитов крови человека при концентрации соединений шестивалентного хрома 10 мкМ усиливалась, а при 1мМ – подавлялась. Влияние на данную реакцию трехвалентного хрома не

выявлено. Отмечено снижение у макрофагов морских свинок продукции фактора, ингибирующего миграцию лимфоцитов (27 мкМ дихромата натрия и 39 мкМ трихлорида хрома), в 2 раза. Трихлорид хрома уменьшает фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышей (in vitro, 450 мг/мл, 20 г) в 2 раза, хемотаксис полиморфноядерных лимфоцитов у кроликов (in vitro, 0,3 мМ, 1 ч) на 50%. Данное соединение вызывает выраженную аллергическую реакцию при подкожном введении (0,1%) у морских свинок. Свойства контактного аллергена выявлены на мышах. На морских свинках установлено, что сенсибилизация к хрому способствует увеличению продолжительности острого периода формирования язвы желудка, при этом определенное значение имеют цитотропные антитела. У мышей при поступлении треххлористого хрома (10-100 ПДК) с водой не наблюдали утяжеления вирусной инфекции [Климова Д.М. и соавт., 1990; Забродский П.Ф., 1998].

Соединения хрома при внутрижелудочном введении вызывают уменьшение массы тимуса, общего белка, РНК и ДНК и повышение активности аденилатдезаминазы и щелочной фосфатазы в данном органе. В комплексе со свинцом, медью, серебром поражающее действие хрома на лимфоидную ткань наиболее выражено. В лимфоцитах при интратрахеальном введении накапливаются соединения шестивалентного хлора (гидроксид ацетат хрома), а не трехвалентного (бихромат натрия) [Забродский П.Ф., 1998].

У лиц, работавших в условиях воздействия хрома более 10 лет, выявлено увеличение В- и О-лимфоцитов, усиление продукции аутоантител, особенно к тканям печени и легких, усиление продукции фактора торможения миграции лимфоцитов [Варзина Н.В. и соавт., 1990]. Соединения хрома могут вызвать бронхиальную астму [Koller L.D., 1984].

Таким образом, хром обладает выраженным аллергическим и аутоиммунным эффектами, снижает Т-зависимый гуморальный иммунный ответ и НРО, при воздействии определенных доз может повышать функциональную активность В-лимфоцитов.

9.19. Цинк

Цинк присутствует во всех растительных и животных тканях. В организме человека содержится 1,4-2,3 г цинка. Цинк – один из наиболее распространенных необходимых металлов в организме человека. Его содержание в организме в 10-15 раз выше меди и в 100 раз выше марганца. Цинк присутствует во всех видах пищи.

Необходимая суточная доза для человека составляет около 0,3 мг/кг. Цинк является кофактором 80 ферментов [Забродский П.Ф., 1998].

Цинк широко применяется в промышленности в виде сплавов с другими металлами. Стеарат цинка и хлорид цинка используются в качестве антисептика, фосфорнокислый цинк – как фермент, гидроокись цинка – для приготовления препаратов инсулина [Ершов Ю.А., Плетенева Т.В., 1989].

Отравления цинком в основном происходят при использовании пестицидов, употреблении напитков, хранящихся в посуде с цинковым гальваническим покрытием. Цинк присутствует в токсинах многих ядовитых змей [Забродский П.Ф., 1998].

$ЛД_{50}$ для хлорида цинка и сульфата цинка составляют соответственно 2,6 и 7,6 мМ/кг при пероральном поступлении. При внутривенном введении данный токсикометрический параметр снижается более чем в 5 раз. Водорастворимые соли цинка малотоксичны. Токсичность фосфида цинка обусловлена не катионом цинка, а образующимся фосфином (PH_3). Токсичность цинка обусловлена нарушением функции железо- и медьсодержащих ферментов, синтеза ДНК, белков, металлотионеинов, лактатдегидрогеназы и других энзимов [Забродский П.Ф., 1998].

Недостаток цинка в пище приводит к супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций, а также к снижению фагоцитоза и комплементарной активности сыворотки крови. Назначение сульфата цинка в дозе 200 мг ежедневно в течение месяца людям старше 70 лет вызывало увеличение в крови числа лимфоцитов, реакции ГЗТ и IgG к антигенам столбнячного токсина. При этом митогениндуцированная бласттрансформация лимфоцитов не изменялась. В дозах 4 и 12 мг/кг (мыши, однократно) цинк увеличивал в костном мозге число гранулоцитарно-макрофагальных колониеобразующих единиц. Ионы цинка активируют цитозольную протеинкиназу С в Т-лимфоцитах. Данный энзим представляет собой смесь ферментов с различным аффинитетом к цинку. После связывания с клеточной мембраной протеинкиназа С становится нечувствительной к действию ионов цинка. Предполагают, что цинк может принимать участие в передаче активирующих сигналов в Т-лимфоцитах в качестве вторичного медиатора и при ауторегуляции ферментов внутриклеточных систем [Забродский П.Ф., 1998; Csermely P. et al., 1989].

Следовые количества цинка могут играть роль в регуляции секреции важных цитокинов типа фактора некроза опухоли, ИЛ-1 и ИЛ-6. Установлена стимуляция соединениями цинка иммунных реакций у экспериментальных животных. Ацетат цинка при

внутрибрюшинном введении в дозе 3 мг/кг повышал активность Т-клеток, макрофагов, резистентность мышей к экспериментальному кандидозу, вирусной инфекции, асцитной опухоли Эрлиха и эндотоксическому шоку. Хлорид цинка (1 мМ, in vitro) повышал синтез ДНК в активированных КонА Т-клетках на 50% и в аутореактивных Т-клетках - в 5 раз, вызывал экспрессию рецепторов к ИЛ-2 и трансферрину. Несмотря на позитивное воздействие цинка на иммунные процессы в оптимальных дозах, его высокие концентрации способны снижать гуморальные и клеточные иммунные реакции. Так, сульфат цинка (0,1 мМ, in vitro, клетки мышей) приводит к снижению Т-зависимого гуморального иммунного ответа к ЭБ через 5 сут. Однократное внутрибрюшинное введение сульфата цинка в дозах 0,7; 4; 12 мг/кг приводит к редукции индуцированной липополисахаридом пролиферации В-лимфоцитов у мышей на 30-80%. Пролиферация Т-лимфоцитов у мышей под влиянием ФГА и митогена лаконоса при однократном поступлении сульфата цинка в дозах 1;3;4;12 мг/кг снижалась на 15-80%. Продукция фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов, при действии цинка (in vitro, 0,1 мкМ, 1 сут) снижалось на 35% у морских свинок. Концентрации сульфата цинка,составляющие 50-100 мкМ, снижали in vitro при экспозиции 4 ч у мышей различных линий активность естественных клеток-киллеров в 6-20 раз как в интактных, так и активированных интерфероном клетках. Данный эффект отмечается при обработке цинком клеток-эффекторов, но не клеток-мишеней [Забродский П.Ф., 1998; Ferry F. et al., 1984; Descotes J., 1986].

У детей с атопическим дерматитом, сочетающимся с рецидивирующими инфекциями, избыток цинка в сыворотке крови сопровождается снижением содержания IgG. В опытах на мышах отмечено подавление гуморального иммунного ответа при содержании в рационе цинка в дозах, превышающих нормальные (50 ppm в 40 раз) на определенных стадиях онтогенеза [Koller L.D. et al., 1977].

Таким образом, цинк является необходимым элементом для обеспечения иммунного гомеостаза. При поступлении в организм в больших дозах может вызывать снижение доиммунных механизмов защиты от инфекций, гуморальных и клеточных иммунных реакций.

***

В заключение данной главы, следует отметить, что иммунотоксичность металлов обусловлена, как правило, нарушением

функции ферментных систем, в которых металлы являются коэнзимами. Многие металлы способны действовать на ДНК и РНК. Токсичные дозы (концентрации) металлов снижают НРО, гуморальные и клеточные иммунные реакции. Большинство металлов и их солей обладают аутоиммунными и аллергическими свойствами, вызывают канцерогенные эффекты. В ряде экспериментов установлены иммуномодулирующие свойства металлов, то есть повышение одних иммунных реакций и снижение других или изменение направленности той или иной иммунной реакции в зависимости от дозы.

ГЛАВА 10. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ТОКСИКАНТОВ, ДЕЙСТВУЮЩИХ НА Р-450-ЗАВИСИМЫЕ МОНООКСИГЕНАЗЫ

10.1. Связь иммунотропных эффектов токсикантов с функцией Р-450-зависимых монооксигеназ

Система цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ (СМО), открытая в начале 50-х годов в результате многолетних исследований в области метаболизма ксенобиотиков [Guengerich F.P., 1992], тесно связана с иммунологическими механизмами в системе поддержания химического гомеостаза [Ковалев И.Е., 1985]. Функция СМО заключается в превращении гидрофобных соединений в гидрофильные, способные выделяться из организма с мочой. Цитохром Р-450 содержится в основном в печени, однако СМО находится и в других тканях: почках, коже, лимфоидных органах. Одно из важных свойств СМО - способность к индукции энзимной активности, в результате чего под влиянием ксенобиотиков способность Р-450-зависимых монооксигеназ осуществлять их биотрансформацию увеличивается в десятки раз. СМО метаболизирует эндогенные соединения: гормоны, холестерин, простагландины и др. Иммуномодулирующий эффект СМО реализуется либо через изменения метаболизма эндогенных иммунорегуляторов, либо путем запуска процесса индукции, что изменяет функцию иммунокомпетентных клеток. При этом используются дополнительная энергия и пластический материал [Козлов В.А. и соавт. 1991]. Суммируя данные практической значимости индукции цитохромов Р-450, следует подчеркнуть, что именно СМО способствует защите живой системы от токсического действия химических факторов окружающей среды [Лукиенко П.И и соавт. 1995]. Система Р-450–зависимых монооксигеназ тесно связана с функцией системы иммунитета [Loose Z.D., 1984]. В лимфоидной ткани животных и человека определены следующие монооксигеназные ферменты: бензпиренгидроксилаза (БГ), этоксирезоруфин-О-деэтилаза, аминопирин-н-деметилаза. Кроме того, идентифицированы следующие формы цитохрома Р-450: Р-450РВ-1, Р-450РВ-4, Р-450МС-1α, Р-450МС-1β. Выделяют две формы индукции СМО: фенобарбиталовую и метилхолантреновую (МХ) [Козлов В.А. и соавт. 1991; Ляхович В.В., Цырлов И.Б., 1981].

Наибольшая активность СМО обнаружена в клетках моноцитарно-макрофагальной системы. Другие клетки (тимоциты, спленоциты,

лимфоциты периферической крови) способны к повышению активности Р-450-зависимых монооксигеназ после митогенной стимуляции. Активность бензпирен-гидроксилазы в Т-лимфоцитах селезенки мышей в 5 раз превышает активность в В-лимфоцитах. Активность БГ в 2 раза выше в Т-супрессорах по сравнению с Т-хелперами [Козлов В.А. и соавт. 1991].

Левамизол и диуцифон (стимуляторы Т-системы иммунитета) повышают активность СМО и цитохром-с-редуктазы в стимулированных ми-тогеном лимфоцитах, а пирогенал и продигиозан снижают или не изменяют активности этих энзимов [Козлов В.А. и соавт. 1991].

Способность полициклических ароматических углеводородов индуцировать активность СМО генетически обусловлена. Для экспрессии генов, ответственных за синтез СМО, необходим комплекс, состоящий из молекулы ксенобиотика и находящегося в цитоплазме клетки специфического Ah-рецептора. Существуют линии мышей с генетическими дефектами этого рецептора. В таких случаях индуцирующий эффект ксенобиотика отсутствует. Ah-рецептор имеет значение для приспособляемости к условиям внешней среды, продолжительности жизни и фертильности [Nebert D.W. et al., 1984]. Описаны данные, свидетельствующие о том, что некоторые полициклические ароматические углеводороды (7,12-диметилбенз(а)антрацен) подавляют иммунореактивность путем, не зависящим от локуса Ah и активации цитохрома Р-450 [Thurmond L.M. et al., 1987].

Анализ данных литературы приводит к выводу, что иммунотоксические эффекты тетрахлордибензо-n-диоксина (ТХДД) и полихлорированных бифенилов (ПХБ) имеют выраженную зависимость с экспрессией генов Ah-локуса. Сходные результаты были получены в опытах с бензпиреном (БП) и метилхолантреном [Козлов В.А. и соавт. 1991; Esser C. et al., 1994]. Противоречивость результатов экспериментов различных авторов в этом отношении связана, вероятно, с различными способами введения ксенобиотиков и зависимостью эффектов иммуносупрессии от их дозы. Причем в ряде случаев не всегда высокое сродство к Ah-рецептору определяло снижение иммунного ответа, и наоборот [Holsapple M.P. et al., 1986].

Иммуносупрессирующее влияние полихлорированных бифенилов и тетрахлордибензофурана сопровождается снижением уровня IgM, IgA и IgG. Полибромированные бифенилы, тетрахлордибензофуран подавляют реакцию бласттрансформации лимфоцитов [Павляк Ф.Л. и соавт., 1998; Bledvins M.R., Aulerich R.I., 1983; Lubet R.A., Brunda M.I.

et al., 1984; Wojdani A., Alfred Z.G., 1984]. Установлено, что ТХДД и МХ снижают у животных устойчивость к эндотоксинам и инфекции [Vos J.G. et al.. 1976; Tewark R.P. et al.. 1979]. Редукция экспрессии рецепторов к ИЛ-1, подавление продукции интерферонов, ИЛ-2 и ИЛ-3, снижение антигенпрезентирующей способности макрофагов вызывают БП [Козлов В.А. и соавт. 1991; Myers M.I. et al., 1987]. Бензантрацен (БА), БП, МХ, ТХДД, ПХБ, β-нафтофлавон снижают количество АОК в селезенке мышей после иммунизации ЭБ [Holsapple M.P. et al., 1986]. Выявлено подавление активности естественных клеток-киллеров под влиянием МХ и ПХБ [Lubet R.A. et al., 1984]. БА, БП и МХ подавляли фагоцитоз бактерий и грибов макрофагами [Erzsebet F., Magdolna K., 1976; Tewark R.P. et al., 1979], а ТХДД и ПХБ существенно снижали реакцию ГЗТ [Bledvins M.R., Aulerich R.I., 1983].

Способностью индуцировать Р-450-зависимые монооксигеназы обладает огромное число ксенобиотиков [Чекман И.С., Гриневич А.И., 1984; Лукиенко П.И. и соавт., 1995] помимо наиболее освещенных в литературе в этом отношении полициклических углеводородов [Ляхович В.В., Цырлов И.Б., 1981]. Существует точка зрения, что функция иммунной системы находится в реципрокных отношениях с активностью СМО [Ковалев И.Е. и соавт., 1981; 1983; 1986]. Установлено, что высокая продукция макрофагами ПГЕ$_2$ и ИЛ-1 вызывает ингибирование Р-448-зависимой монооксигеназной активности [Громыхина Н.Ю. и соавт., 1992]. Описаны данные, как подтверждающие эту концепцию [Сибиряк С.В., и соавт, 1990; Хлопушина Т.Г., Кринская А.В., 1991], так и противоречащие ей [Саприн А.Н. и соавт, 1982]. Эта теория до сих пор не получила достаточно убедительного подтверждения.

Наиболее интересными представляются исследования, в результате которых установлен высокий коэффициент корреляции (0,81-0,85) между антиинфекционной резистентностью организма и ингибированием монооксигеназ печени. При этом активность данных ферментов подавляется в результате функции макрофагов, продуцирующих интерферон и ИЛ-1. Азолы (левамизол) способны ингибировать СМО вследствие связывания с геминовой частью цитохрома Р-450 [Сибиряк С.В. и соавт., 1990]. В то же время доказано, что витамин А, левамизол, фенобарбитал и другие вещества, индуцирующие СМО, способны повышать активность Т-киллеров, Т-супрессоров и естественных киллеров в результате индукции в иммуноцитах цитохром-Р-450-зависимых монооксигеназ [Саприн А.Н.

и соавт., 1982]. В целом действие токсикантов, связывающихся с цитохромом Р-450, неоднозначно. Так, метилметакрилат угнетает иммунную систему в дозах 5 и 25 мМ/кг, а в дозе 1 мМ/кг - незначительно стимулирует ее [Бекеров В.Е. и соавт., 1988]. Индукция СМО сопровождается стимуляцией иммунного ответа, направленного на связывание бенз(а)пирена и о-аминоазотолуола рецепторами лимфоцитов и циркулирующими антителами [Ковалев И.Е. и соавт., 1990]. Интересно отметить, что гормоны тимуса (иммуностимуляторы) активируют Р-450-зависимые монооксигеназы печени [Бастрянова Л.В. и соавт., 1991; Павляк Ф.Л. и соавт., 1998], а ФОС (O,O,S-триметилтиофосфат), обладающий иммуносупрессивными свойствами, ингибирует активность цитохрома-Р-450 [Verschoyle R.D., Dinsdale D., 1990]. Описаны данные, позволяющие считать, что индукция токсикантом Р-450–монооксигеназ не может служить маркером его иммунотоксических свойств [Hattomer-Frey H.A., Travis C. C., 1989].

Анализ данных об иммуномодулирующих эффектах индукторов и ингибиторов СМО позволяют полагать, что механизмы иммуномодуляции определяются тропностью ксенобиотика или его метаболитов к той или иной популяции иммуноцитов [Козлов В.А. и соавт., 1991]. Описаны результаты исследований, свидетельствующие о том, что индукторы цитохрома Р-450 (барбитураты и другие соединения) могут рассматриваться как иммунодепрессанты [Хлопушина Т.Г. и соавт., 1987; Ковалев И.Е. и соавт., 1981; 1990], так и в качестве веществ, обладающих свойствами иммуностимуляторов [Саприн А.Н. и соавт., 1982; Вольский Н.Н. и соавт., 1985; Саватеев Н.В. и соавт., 1986].

Зиксорин – индуктор СМО – способен несколько снижать содержание Т-лимфоцитов и увеличивать содержание и активность естественных киллеров [Козлов В.А. и соавт., 1991]. Выявлена способность зиксорина стимулировать гуморальный иммунный ответ в дозе 50 мг/кг [Вольский Н.Н. и соавт. 1985]. Описаны данные, свидетельствующие о том, что препараты, обладающие как иммуностимулирующими, так и иммунодепрессивными свойствами, индуцируют в микросомах печени синтез цитохрома Р-450 [Кузьмицкий Б.Б. и соавт., 1990].

Установлено, что легочные альвеолярные макрофаги, содержащие Р-450-зависимые монооксигеназы, играют решающую роль в детоксикации вдыхаемых ксенобиотиков. При этом может изменяться функция моноцитарно-макрофагальной системы легких. Кроме того,

возможно образование метаболитов, обладающих выраженным иммунодепрессивным или канцерогенным действием [Imamura T. et al., 1983; Parke D., 1988]. Существуют многочисленные работы, доказывающие возможность использования индукции цитохрома Р-450 как одного из новых методов терапии отравлений фосфорорганическими инсектицидами [Каган Ю.С. и соавт., 1980; Саватеев Н.В. и соавт., 1986].

В литературе высказано предположение, что низкое содержание цитохрома Р-450 у морских свинок, связанное с усилением метаболизма липофильных глюкокортикоидов, выполняющих ключевую роль в осуществлении противоаллергической резистентности организма, обеспечивает повышенную анафилактическую чувствительность этих животных [Марокко И.Н. и соавт., 1991].

Лекарственная терапия препаратами, относящимися к индукторам или ингибиторам СМО, должна учитывать иммунный статус организма, так как в противном случае можно получить нежелательные эффекты. Так, снижение активности СМО в иммуноцитах при действии на них иммунотропных веществ, метаболизируемых Р-450-зависимыми монооксигеназами, может привести к токсическим эффектам в отношении этих клеток.

Вероятно, эволюционно ксенобиотики способны выступать в роли экзогенных иммуномодуляторов, действуя на СМО. При этом нарушение механизмов взаимодействия Р-450-зависимых монооксигеназ с токсикантами может приводить к возникновению иммунопатологических состояний [Козлов В.А. и соавт., 1991].

Как уже указывалось, данные в отношении иммунотропных свойств индукторов СМО противоречивы. Описаны результаты исследований, свидетельствующие о том, что индукторы СМО (барбитураты и другие соединения) могут оказывать как иммуносупрессивное, так и иммуностимулирующее действие [Ковалев И.Е. и соавт., 1990; Козлов В.А. и соавт., 1991]. Можно предположить, что, индуцируя СМО, многие ксенобиотики (в частности, барбитураты) способны усиливать реализацию иммунотоксических эффектов токсичных химических веществ, образующих высокотоксичные продукты биотрансформации («летальный синтез»). К таким ТХВ относятся метанол, этиленгликоль, дихлорэтан, тетрахлорметан, паратион и др. [Забродский П.Ф., 1998; Б.А. Курляндский и соавт., 2002] .

Нами проведены эксперименты на беспородных белых крысах

обоего пола [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2004]. Использованы токсичные химические вещества (ТХВ), которые метаболизируются по типу «летального синтеза» и этот метаболизм может быть усилен индукторами СМО [Козлов В.А. и соавт. 1991; Забродский П.Ф., Линючев М.Н., 1993; Забродский П.Ф., 1998; Б.А. Курляндский и соавт., 2002]. В течение трех суток до острой интоксикации ТХВ животным внутрижелудочно вводили индукторы МС печени фенобарбитал (ФБ) или бензонал (БЗ) в дозах соответственно 50 и 70 мг/кг. Известно, что данные барбитураты при такой кратности введения мышам или крысам в дозах, составляющих 40–70 мг/кг, обеспечивают индукцию микросомальных энзимов [Забродский П.Ф., Линючев М.Н., 1993; Саратиков А.С. и соавт., 2003]. ТХВ – этиленгликоль (ЭГ) и 1,2-дихлорэтан (ДХЭ), острые отравления которыми характеризуются высокой частотой и смертностью [Забродский П.Ф. и соавт., 1997; 1998; 2002; Кожемякин Л.А. и соавт., 1991], вводили per os в дозе 1,0 $ЛД_{50}$. Среднелетальные дозы ЭГ и ДХЭ составляли для крыс соответственно 11,7±2,9 и 0,93±0,1 г/кг.

После применения ФБ отмечалось (табл.10.1) несущественное увеличение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,19; 1,12; 1,28 и 1,21 раза ($p>0,05$), а после использования БЗ – соответственно в 1,24; 1,18; 1,23 и 1,26 раза ($p>0,05$). Под влиянием ФБ и БЗ активность ЕКК повышалась соответственно в 1,26 и 1,32 раза ($p<0,05$). Иммунотропные эффекты фенобарбитала и бензонала практически не отличались.

Таблица 10.1

Влияние острого отравления ТХВ, метаболизирующихся с образованием более токсичных соединений, на показатели системы иммунитета у крыс после применения индукторов монооксигеназной системы (M±m, n=6-10)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag , 10^3	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	33,4 ± 3,2	25,4±2,5	28,2± 1,8	12,1± 1,2	31,3±2,7
ФБ	39,6 ± 3,8	28,6±2,8	35,7± 2,7*	15,5±1,4	37,8±2,9
БЗ	41,3 ± 4,4	30,1±3,0	37,1±2,5*	14,9±1,5	39,4±3,0
ЭГ	20,4 ± 2,3*	19,0 ± 1,7*	16,9±2,0*	8,0 ± 1,0*	24,0 ± 2,1*
ДХЭ	19,5 ± 2,0*	16,5 ± 2,0*	14,8±1,5*	7,4 ± 0,8*	19,2 ± 2,3*
ФБ +ЭГ	11,9 ± 1,3**	12,4 ± 1,7**	15,0±1,1**	4,9 ± 0,8**	15,0 ± 1,6**
ФБ+ДХЭ	9,8 ± 1,1**	10,5 ± 1,8**	10,3±1,4**	4,1 ± 0,7**	12,3 ± 1,3**
БЗ+ЭГ	10,7 ± 1,9**	13,5 ± 1,5**	12,7±1,6*	5,4 ± 1,0**	16,5 ± 1,6**

БЗ+ДХЭ	12,4 ± 1,6**	9,5 ± 1,3**	9,5±1,3*	4,0 ± 1,1**	14,3 ± 1,4**

Примечания: ФБ, БЗ, М, ЭГ, ДХЭ – соответственно фенобарбитал, бензонал, метанол, этиленгликоль, дихлорэтан; * – p<0,05 по сравнению с контролем; ** – p<0,05 по сравнению с контролем и показателем после интоксикации ТХВ без применения индукторов МС.

Острое отравление этиленгликолем вызывало редукцию Т-зависимого, Т-независимого гуморального иммунного ответа, ЕЦ, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,63; 1,33; 1,69; 1,51 и 1,30 раза (p<0,05), а дихлорэтаном - в 1,71; 1,54; 1,91; 1,64 и 1,63 раза (p<0,05) соответственно. В среднем исследованные показатели системы иммунитета под влиянием ЭГ и ДХЭ снижались соответственно в 1,50 и 1,69 раза.

Острая интоксикация ЭГ и ДХЭ после трехдневного введения ФБ и БЗ вызывала существенную супрессию показателей системы иммунитета по сравнению с контролем и параметрами иммунного статуса после интоксикации ТХВ без применения индукторов СМО (p<0,05) в целом наиболее выраженную при комбинированном действии БЗ и ДХЭ. Так, по сравнению с антителопродукцией к Т-зависимому и Т-независимому антигенам, ЕЦ, АЗКЦ и реакцией ГЗТ при остром действии ДХЭ применение БЗ приводило к уменьшению данных параметров соответственно в 1,57; 1,74; 1,55; 1,85 и 1,34 раза (p<0,05).

Под влиянием ФБ и БЗ статистически значимо увеличивалось содержание белка и цитохромов Р-450 и b5 в печени (табл. 10.2), что, вероятно, обусловливает повышение ЕЦ и тенденцию к возрастанию других показателей системы иммунитета.

Т а б л и ц а 10.2

Влияние фенобарбитала и бензонала на содержание белка и цитохромов в микросомах печени крыс (M±m, n=7-9)

Показатели	Контроль	Фенобарбитал	Бензонал
Белок, мг/орган	60,5±6,7	155,3±16,3*	143,4±9,1*
Цитохром Р-450, нмоль/г белка	0,80±0,04*	3,58±0,40*	2,84±0,25*
Цитохром b5, нмоль/г белка	0,35±0,03	0,56±0,05*	0,65±0,06*

Примечание: *– p<0,05 по сравнению с контролем.

Монооксигеназная система печени и лимфоидной ткани, значительно повышая биотрансформацию ЭГ и ДХЭ, вызывает образование соединений более токсичных, чем введенные вещества (феномен «летального синтеза») [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991;

Забродский П.Ф., Линючев М.Н., 1993; Забродский П.Ф., 1998; Б.А. Курляндский и соавт., 2002]. Причем, по-видимому, на иммунокомпетентные клетки (ИКК) и ЕКК действуют помимо ТХВ их высокотоксичные метаболиты, концентрации которых значительно превышают в токсикогенной фазе интоксикации уровни ядовитых продуктов битрансформации, образующихся без применения индукторов СМО. Именно данное обстоятельство приводит к значительному увеличению иммунотоксичности ТХВ, метаболизирующихся с образованием более токсичных веществ, чем поступившее в организм соединение.

После применения индукторов СМО усиление супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием высокотоксичных метаболитов ЭГ (гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой и щавелевой кислот) [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991; Забродский П.Ф. и соавт., 2002] и ДХЭ (2-хлорэтанола, хлоруксусного альдегида, хлоруксусной кислоты) [Курашов О.В., Троцевич В.А., 1992; Забродский П.Ф. и соавт., 1997], видимо, обусловлено нарушением функции ИКК в результате их взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами ферментов иммуноцитов, а также ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях лимфоцитов и макрофагов [Забродский П.Ф., 1998; 2002].

Таким образом, использование индукторов монооксигеназной системы фенобарбитала и бензонала перорально в течение трех суток в дозах соответственно 50 и 70 мг/кг до острого отравления животных ТХВ (этиленгликолем и дихлорэтаном в дозах 1,0 DL_{50}), метаболизирующимися в организме до высокотоксичных соединений (феномен «летального синтеза»), вызывает увеличение их иммунотоксических свойств.

Влияние ингибиторов цитохрома Р-450 на иммунотоксические свойства токсикантов, метаболизирующихся в организме СМО до высокотоксичных соединений, в настоящее время не исследовано [Курляндский Б.А. и соавт., 2002; Shunji Ueno et al., 1997]. К числу обратимых и необратимых ингибиторов цитохрома Р-450 относятся многочисленные соединения различной химической природы (эфиры, спирты, фенолы, производные бензола, гидразины, SKF-525A, полигалогенизированные алканы, ингибиторы белкового синтеза и др.) [Голиков С.Н. и соавт. 1986; Benz F. W., Nerland D. E., 2005].

Существуют основания предполагать, что обратимый ингибитор цитохрома Р-450 2-диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетат (SKF-

525А), при последующем действии на организм ТХВ, образующих высокотоксичные метаболиты преимущественно МС (1,2-дихлорэтан - ДХЭ, фосфамид, паратион, трихлорэтилен, акрилонитрил и др.) [Голиков С.Н. и соавт. 1986; Курляндский Б.А. и соавт., 2002; Shunji Ueno et al., 1997; Benz F. W., Nerland D. E., 2005], может сопровождаться снижением их иммунотоксических эффектов.

Нами проводилась оценка поражения иммунной системы токсикантами, метаболизирующимся монооксигеназной системой до высокотоксичных соединений, 1,2-дихлорэтаном (ДХЭ) и трихлорэтиленом (ТХЭ) после введения ингибитора цитохрома Р-450 SKF-525A и его связь с содержанием метаболитов ДХЭ в селезенке.

В экспериментах использовали беспородных белых крыс обоего пола массой 180-250 г. Токсиканты - ДХЭ и ТХЭ, относящиеся к хлорированным углеводородам (ХУ), острые отравления которыми характеризуются высокой частотой и смертностью [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000], вводили per os в дозе 1,0 DL_{50}. Среднелетальные дозы ДХЭ и ТХЭ составляли для крыс соответственно $0{,}93 \pm 0{,}11$ и $4{,}7 \pm 0{,}4$ г/кг. SKF-525A вводили внутриперитонеально в дозе 50 мг/кг за 1 сут до применения ХУ.

Содержание в селезенке продуктов биотрансформации ДХЭ определяли через 1 сут после интоксикации при помощи хроматографа ЛХМ-8МД с пламенно-ионизационным детектором по методике [Лужников Е.А. и соавт., 1985; Елькин А.Н. и соавт., 2004].

После острого отравления ДХЭ отмечалась (табл. 10.3) существенная редукция гуморального иммунного ответа к тимусзависимому и тимуснезависимому антигенам, активности ЕКК, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 2,02; 1,66; 1,78; 2,11 и 1,99 раза ($p<0{,}05$), а после интоксикации ТХЭ – соответственно в 1,86; 1,49; 1,47; 1,88 и 1,82 раза ($p<0{,}05$). После использования SKF-525A иммуносупрессивные эффекты ХУ статистически значимо уменьшались ($p<0{,}05$). Так, острое отравление ДХЭ после введения SKF-525A приводило к увеличению тимусзависимую и тимуснезависимой гуморальной иммунной реакции, ЕЦ, АЗКЦ и формированию ГЗТ по сравнению с показателями после действия токсиканта соответственно в 1,44; 1,33; 1,39; 1,49 и 1,47 раза. При этом все показатели оставались существенно ниже, чем в контроле ($p<0{,}05$). Применение SKF-525A до отравления ДХЭ оказывало меньший иммунопротективный эффект по сравнению с действием 2-диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетата до интоксикации ТХЭ, вероятно, в связи с более высокой иммунотоксичностью ДХЭ.

Т а б л и ц а 10.3

Влияние хлорированных углеводородов и SKF-525A после острого отравления ДХЭ и ТХЭ на показатели системы иммунитета у крыс (M±m, n= 7-11)

Серии опытов		АОК к ЭБ в селезенке (10^3)	АОК к Vi-Ag в селезенке (10^3)	ЕЦ,%	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	1	37,7 ± 3,0	28,4±2,3	34,3±1,9	13,7±1,4	35,4±2,9
ДХЭ	2	18,7 ± 2,2	17,1±1,5	19,3±1,6	6,5±1,1	17,8 ± 2,0
ТХЭ	3	20,3 ± 2,1	19,0±1,6	22,0±1,7	7,3±1,2	19,4 ± 1,9
SKF-25A +ДХЭ	4	27,0±2,3	22,8±1,9	26,9±1,8	9,5 ± 1,3	26,1 ± 2,5
SKF-525A +ТХЭ	5	29,3±3,1	24,7±2,0	27,3±2,0	10,2±1,5	30,2 ± 2,6
Достоверность различий-р<0,05		1-2, 1-3, 1-4, 2-4, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 2-4, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 2-4, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 2-4, 3-5	1-2, 1-3, 1-4, 2-4, 3-5

После острой интоксикации ДХЭ через 1 сут в селезенке определялись его метаболиты 2-хлорэтанол, 2-хлорацетальдегид и хлоруксусная кислота. Использование SKF-525A до введения ДХЭ приводило к снижению концентрации 2-хлорэтанола и хлоруксусной кислоты соответственно в 1,91 и 1,65 раза (р<0,05), при этом содержание 2-хлорацетальдегида в органе не зарегистрировано (табл. 10.4). Это свидетельствует о том, что редукция иммунотоксичности ХУ, связанная с действием SKF-525A, обусловлена снижением метаболизма ДХЭ и ТХЭ Р-450-зависимыми монооксигеназами.

Т а б л и ц а 10.4

Влияние ДХЭ и SKF-525A после острого отравления ДХЭ через 1 сут на содержание его метаболитов в селезенке крыс через 1 сут, мг/кг (M±m, n= 7-11)

Метаболиты	Серии опытов	
	ДХЭ	SKF-525A +ДХЭ
2-хлорэтанол	0,21±0,03	0,11±0,03*
2-хлорацетальдегид	0,12±0,02	НО
Хлоруксусная кислота	2,03±0,24	1,23±0,13*

Примечание: *р<0,05 по сравнению с контролем; НО – не определялся.

Существуют основания считать, что биотрансформация ХУ может происходить не только в печени, но и в лимфоцитах. Так, доказано, что витамин А, левамизол, фенобарбитал и другие вещества способны индуцировать цитохром-Р-450 в Т-лимфоцитах, ЕКК и повышать их активность [Саприн А.Н. и соавт.,1982].

Ингибирование SKF-525A монооксигеназной системой печени и лимфоидной ткани, значительно снижая биотрансформацию ХУ, уменьшает образование соединений более токсичных, чем введенные вещества [Забродский П.Ф. и соавт., 2004]. Это сопровождается редукцией иммуносупрессивного эффекта ДХЭ и ТХЭ.

Таким образом, использование ингибитора цитохрома Р-450 препарата SKF-525A (диэтиламиноэтил-2,2-дифенилпропилацетата) до острого отравления белых крыс 1,2-дихлорэтаном и трихлорэтиленом в дозе 1,0 DL_{50}, метаболизирующихся в организме до соединений с более высокой токсичностью (феномен «летального синтеза»), вызывает редукцию их иммунотоксических свойств вследствие снижения образования продуктов их биотрансформации.

Анализ данных литературы и собственных исследований позволяет заключить, что использование индукторов монооксигеназной системы при остром отравлении токсикантами, метаболизирующимися в организме до высокотоксичных соединений (феномен «летального синтеза»), вызывает увеличение их иммунотоксических свойств, а применение ингибиторов цитохрома Р-450 вызывает обратный эффект вследствие снижения образования продуктов биотрансформации ТХВ.

10.2. Иммунотропные свойства диоксинов

Установлено, что иммунотропная активность диоксинов прямо связана с их способностью индуцировать Р-450-зависимые оксигеназы [Neubert D., 1992].

Вопреки распространенному мнению о локальном загрязнении окру-жающей среды (ОС) полихлорированными дибенздиоксинами (ПХДД) и дибензфуранами (ПХДФ) современные исследования в различных про-мышленно развитых странах показали их широкое распространение в атмосферном воздухе в крайне разных концентрациях 1,3-9,6 пг/м^3 (средне-геометрическая - 3,4 пг/м^3). Фоновые концентрации ПХДД и ПХДФ в почве 15 городов США составляют 52-9100 пг/м3 (в среднем - 1405), средние концентрации в городской почве в Канаде - 1819 пг/г.

Содержание ПХДД и ПХДФ в коровьем молоке колеблется в пределах 0,6-3,1 пг/г, в озерной и речной рыбе США может достигать 85 пг/г. Основными источниками выбросов этих веществ в ОС являются металлургические заводы, целлюлозно-бумажные производства, автотранспорт, производства органического синтеза,

процессы сжигания промышленных и бытовых отходов, лесные пожары. Исследования в ФРГ, Канаде, Японии показали, что с основными пищевыми продуктами (мясо, молоко) человек получает в среднем 98 пг/сут этих веществ. Расчеты показывают, что из 1 л молока организм получает в 12 раз большую дозу ПХДД и ПХДФ, чем за счет вдыхаемого воздуха за 1 сут. Пищевая цепь является основным путем поступления ПХДД и ПХДФ в организм, что необходимо учитывать при разработке стандартов их содержания в ОС [68]. С продуктами питания в организм поступает 98% диоксинов, с воздухом - 2%, питьевой водой - менее 0,01% общего поступления. Из продуктов питания поступает 50% диоксинов с мясом, 27% - с молоком, 10% - с рыбой и 11% - с другой пищей. В среднем поступление диоксинов в организм колеблется в пределах 0,03-0,05 нг/сут. Выбросы установок по сжиганию мусора обеспечивают поступление в организм приблизительно в 160 раз меньше диоксинов, чем поступление их с продуктами питания и питьевой водой [Hattomer-Frey H.A., Travis C. C. , 1989].

У диоксинов и дибензфуранов отмечаются весьма сходные иммунотропные эффекты. Влияние диоксинов на систему иммунитета изучено в большей степени, чем ПХДФ. В группу "диоксинов" входят 75 соединений. Наиболее изученным из них является 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксин (Д). Анализ современных данных показывает, что человек менее чувствителен к действию Д, чем многие исследованные виды лабораторных животных. Высокие дозы Д могут вызывать хлоракне. Острые симптомы и изменения не всегда переходят в хронические нарушения и со временем исчезают. Отмечают отсутствие убедительных данных о связи воздействия Д на человека с преждевременной смертностью, хроническими заболеваниями печени и сердечно-сосудистой системы, иммунной и нервной систем, нарушением репродуктивной функции или какими-либо другими заболеваниями, за исключением рака. Воздействие низких уровней Д в целом на протяжении жизни человека не вызывает неблагоприятных последствий со стороны здоровья [Houk Vernon N., 1992]. Следует отметить, что изложенная точка зрения не является общепризнанной.

После всемирно известной аварии в Севезо в 1976 г. с выбросом зна-чительного количества Д его содержание в крови людей, проживающих вблизи завода, превышало средние уровни у жителей промышленных районов в 2000-4000 раз, однако только у некоторых из них развилось хлоракне. Таким образом, хлоракне не может

рассматриваться как показатель воздействия Д. Эпидемиологические исследования отдаленных последствий воздействия Д выявили некоторое увеличение случаев саркомы мягких тканей, рака печени, опухолей лимфатической и кроветворной систем. Редкость этих типов опухолей, их незначительный рост не позволяют считать причиной их учащения только действие Д [Faith R.E., 1992]. Иммунотоксикологические экспериментальные исследования Д обширны и освещены в литературе, особенно в последние годы, довольно подробно.

У мышей и крыс различных линий при дозах Д от 5 мкг/кг при пероральном поступлении ежедневно, на протяжении 4 недель выявлено снижение массы лимфоидных органов в отдельных случаях более чем в 2 раза [Vos J.G. et al., 1973, Faith R.E., Moore I.A., 1977; Luster M.L. et al., 1980; Sharma R.P., Ghering P.G., 1979]. При этом отмечалось значительное возрастание содержания в периферической крови нейтрофилов в 2,4 раза (пре - и постнатальное воздействие в дозах 4-5 мкг/кг перорально в течение 4 дней), а также костномозговых клеток–предшественников гранулоцитарно-макрофагально-колониеобразующих единиц [Luster M.L. et al., 1980].

Диоксин снижал, как при однократном (1,2- 6 мкг/кг, внутриперитонеально), так и при многократном введении (0,008 мгк/кг, перорально, 8 недель, морские свинки) Т-зависимый и тимуснезависимый гуморальный иммунный ответ [Vos J.G. et al., 1973, Vecchi A. et al., 1980]. Следует отметить, что морские свинки наиболее чувствительны к Д. In vitro Д при концентрации 50 нг/мл на 70% снижал пролиферацию В-лим-фоцитов, индуцированную липополисахаридом [Luster M.L. et al., 1978]. Использование различных тестов для оценки клеточного иммунного ответа под влиянием Д (ГЗТ, пролиферация Т-клеток, индуцированная ФГА, КонА, или митогеном лаконоса) показало: при острой и хронической интоксикации Д, а также в опытах in vitro у мышей и крыс различных линий, морских свинок отмечалось более чем двукратное снижение исследованных параметров (дозы и концентрации находились в пределах значений, использованных для оценки гуморального иммунитета) [Luster M.L. et al., 1978; Vos J.G. et al., 1978].

Неспецифическая резистентность организма, оцениваемая по устойчивости мышей к различным видам инфекции, под влиянием Д также существенно снижалась [Luster M.L. et al., 1978; Vos J.G. et al., 1978]. Снижение активности естественных киллеров у мышей C57BL/6 (30 мкг, внутрибрюшинно, однократно) не отмечено [Vecchi

A. et al. , 1980].

В отношении иммунотоксичности Д минимальная действующая доза определена на уровне 0,04 мкг/кг в неделю для морских свинок. При этой дозе в тимусе выявлены гистологические нарушения, а клеточный иммунитет был угнетен. За приемлемую дозу диоксинов и их аналогов для человека принята доза 1 пг/кг в день [Politt F.D., 1900]. Установлено, что Д оказывает прямое ингибирующее действие на Т-хелперы, а супрессорные Т-лимфоциты не вовлечены в реализацию иммуносупрессивного действия диоксина [Tomar R.S., Kerkvliet N.I., 1991]. У мартышек под влиянием Д наблюдали количественные сдвиги определенных субпопуляций периферических лимфоцитов, особенно Т-клеток, а также (в меньшей степени) В-лимфоцитов [Neubert R. et al. , 1991]. Описаны данные, свидетельствующие о том, что тетра-хлордибензо-n-диоксин поражает преимущественно гуморальный иммунный ответ и Т-лимфоциты; отмечено снижение и В-лимфоцитов в лимфоузлах после иммунизации мышей C57BL яичным альбумином [Lundberg K. et al. , 1990]. Имеются основания считать, что изменение активности Т-клеток не играет существенной роли при развитии иммунодепрессии в результате введения Д, и активный механизм иммунодепрессивного действия препарата заключается в его воздействии на В-клетки [Dooley R.K. et al. , 1990]. Влияние на В-клетки определяется супрессией Т-зависимого и Т-независимого антителообразования, причем Д влияет на дифференцировку В-лимфоцитов, а не на их пролиферацию [Tucker A.N. et al., 1986]. Показано, что Д в концентрации 30 и 60 мМ усиливает пролиферацию В-лимфоцитов через 72 и 92 ч in vitro, а также синтез IgM этими клетками, выявляемый через 7 сут культивирования [Morris D.L., Holsapple M.P., 1991]. Доказано, что Д нарушает способность Т-клеток активировать В-лимфоциты в процессе иммунного ответа [McConkey D.J., Ovenius S., 1999].

Установлено, что атрофия тимуса при воздействии Д связана с его влиянием на претимоциты. Атрофия тимуса, индуцированная Д, обусловлена активацией Ca^2-зависимой эндонуклеазы [Dooley R.K., Holsapple M.P., 1988].

Результаты использования различных сочетаний в культуре макрофагов, Т- и В-лимфоцитов от интактных и получавших Д мышей показали, что супрессия иммунного ответа (синтеза антител) связана с воздействием Д на В-лимфоциты. При этом подавляется синтез главным образом IgM. Снижение способности к синтезу антител В-

лимфоцитами не влияет на их пролиферативную активность, индуцированную липополисахаридом in vitro [Забродский П.Ф., 1998].

У мышей при внутрибрюшинном введении Д в дозе 50 мкг/кг через 4 сут происходило усиление бласттрансформации тимоцитов, индуцированной КонА, ослабление продукции ИЛ-2. In vitro Д вызывал торможение гуморального иммунного ответа [Lundberg K et al., 1990].

Под влиянием Д наблюдали уменьшение клеток с фенотипом $СД4^{+}СД8^{+}$ и увеличение числа клеток $СД8^{+}$ и $СД3^{+}$. Выявлено ослабление пролиферации клеток, как правило, на самой ранней стадии развития тимоцитов. Кроме того, Д нарушал процесс взаимодействия между тимоцитами и стромой [Esser C. et al., 1994]. Д у мышей при внутрибрюшинном введении в дозе 5 мкг (на животное), а затем 3 раза в неделю ежедневно в дозе 1,42 мкг вызывал снижение ответа Т-клеток на КонА, липополисахарид и повышал активность естественных киллеров в 3,4 раза на 28 сут и в 2,2 раза - на 120 сут [Funseth E., Ilback N.G., 1992].

Установлено, что преинкубация мононуклеарных клеток в течение 24 ч с Д усиливала последующую бласттрансформацию лимфоцитов в ответ на КонА на 38,5%, а также повышала их киллерную активность по отношению к стимулированным КонА свежевыделенным мононуклеарам на 23%. Это свидетельствует о том, что Д влияет на способность к взаимной регуляции мононуклеаров и лимфоцитов [Забродский П.Ф., 1998]. Диоксин вызывал фосфорилирование белков с молекулярными массами 29, 45, 52 и 63 кД. Этот процесс происходил только в В-, но не в Т-лимфоцитах. Д тормозил антителопродукцию В-клетками in vitro, а человеческий γ-интерферон в дозах 0,5-500 ед/мл снижал этот эффект. Интерферон также тормозил вызываемый Д процесс фосфорилирования [Snyder N.K. et al., 1993].

Таким образом, данные литературы о преимущественном иммуното-ксическом действии Д на те или иные популяции и субпопуляции иммуноцитов противоречивы.

Нами [Забродский П.Ф. и соавт., 2004] проводилась оценка показателей НРО, изменений основных гуморальных и клеточных иммунных реакций при остром действии 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина (ТХДД). Опыты проводили на неинбредных крысах обоего пола массой 200-240 г. 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксин вводили перорально, в оливковом масле, однократно в дозах 1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг ($ЛД_{50}$ ТХДД для крыс при внутрижелудочном введении

составляла 56±5 мкг/кг).

После действия 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина (табл.10.5) в дозах 1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг (происходило дозозависимое снижение $ЛД_{50}$ E.coli и Et50 в тесте с моделированием экспериментальной инфекции после иммунизации E.coli, что свидетельствует о редукции НРО и интегральной иммунологической резистентности организма – (ИИРО).

Т а б л и ц а 10.5

Влияние 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина на ИИРО и показатели НРО у крыс (M+m, n=15-25)

Показатель	Контроль	Доза, мкг/ кг		
		1,0	4,0	8,0
LD_{50} *E. coli*, 10^9 микр. тел	5,52±0,31	4,65 ± 0,32	3,95 ± 0,30*	3,02±0,28*
Et_{50} ,ч	20,0±1,8	16,2±1,4	14,4±1,3*	8,5±1,2*
БАСК, %	76,3±4,0	67,2±4,1	53,3±3,8*	40,4±3,1*
Лизоцим, мг/л	10,6±1,3	8,2±0,9	5,0±0,6*	3,3±0,5*
ТКБ, %	64,3±2,7	56,1±3,0	45,2±3,4*	37,0±3,2*
Индекс активности нейтрофилов (НСТ-тест)	0,24±0,02	0,18±0,03	0,14±0,02*	0,08±0,02*

Примечание: * – различие с контролем достоверно – $p<0,05$.

После отравления мышей ТХДД отмечалось прямо связанное с дозой уменьшение БАСК, сывороточного содержания лизоцима, ТКБ (β-лизина), индекса активности нейтрофилов в НСТ-тесте по сравнению с контрольным уровнем. Статистически значимые сдвиги показателей отмечались при дозах, составляющих 4,0 и 8,0 мкг/кг ($p<0,05$). Так, при действии ТХДД в дозе 8,0 мкг/кг БАСК, лизоцим, фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов в НСТ-тесте снижались соответственно в 1,84; 3,21; 1,74 и 3,00 раза.

Нами экспериментально установлено (табл. 10.6), что ТХДД при действии (1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг) вызывал дозозависимую редукцию гуморального иммунного ответа к Т-зависимому (ЭБ), Т-независимому антигенам, а также супрессию реакции ГЗТ. Достоверные изменения Т-зависимой гуморальной иммунной реакции и формирования ГЗТ по сравнению с контролем отмечались при дозах, составляющих 4,0 и 8,0 мкг/кг ($p<0,05$). Статистически значимая редукция антителопродукции к Т-независимому (Vi-Ag) антигену была выявлена при действии ТХДД в дозах, составляющих 1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг ($p<0,05$). Так, при действии 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина в дозе 4,0 мкг/кг число АОК к ЭБ, Т-независимое антителообразование (число АОК к Vi-Ag), реакция ГЗТ

снижались соответственно в 1,73; 2,60 и 1,57 раза, а при действии ТХДД в дозе 8,0 мкг/кг данные параметры уменьшались соответственно в 2,88; 3,77 и 2,03 раза (p<0,05). Статистически достоверного изменения активности ЕКК под влиянием ТХДД в дозах, составляющих 1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг, не выявлено. Полученные данные свидетельствуют о том, что Т-независимый гуморальный иммунный ответ снижался под влиянием ТХДД в большей степени, чем Т-зависимая гуморальная иммунная реакция (p<0,05). Это обусловлено способностью ТХДД фосфорилировать белки с молекулярными массами 29, 45, 52 и 63 кД только в В-лимфоцитах [Snyder N.K., 1993].

Т а б л и ц а 10.6

Влияние 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксина на гуморальные и клеточные иммунные реакции у крыс (M+m, n=7-9)

Показатель	Контроль	Доза, мкг/ кг		
		1,0	4,0	8,0
АОК к ЭБ, 10^3	43,5±4,3	34,5±3,3	25,2±3,1*	15,1±2,5*
АОК к Vi-Ag, 10^3	35,1±3,4	25,1±3,0*	13,5±2,6*	9,3±1,5*
ЕЦ ,%	25,4±3,2	20,2±2,3	22,0±3,7	28,9±4,0
ГЗТ, %	27,4±2,6	21,9±2,2	17,4±2,2*	13,5±2,0*

Примечание: * – различие с контролем достоверно – p<0,05.

Изменение ИИРО, показателей НРО и иммунного статуса при действии ТХДД обусловлено экспрессией генов, ответственных за синтез цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ. Данный процесс реализуется в результате образования комплекса, состоящего из молекулы ксенобиотика и находящегося в цитоплазме клетки специфического Ah-рецептора [Забродский П. Ф., 1998]. Выявленное снижение показателей НРО, ИИРО и системы иммунитета при действии ТХДД обусловлено нарушением нуклеинового обмена в клетках крови, в том числе в иммуноцитах; влиянием диоксина на дифференцировку В-лимфоцитов [Tucker A.N. et al.,1986]; редукцией способности Т-клеток активировать В-лимфоциты в процессе иммунного ответа [McConkey D.J., Ovenius S., 1989]; снижением продукции ИЛ-2 Т-клетками и пролиферации тимоцитов на самой ранней стадии их развития; нарушением процесса взаимодействия между тимоцитами и стромой [Esser C. et al.,1994], ингибированием функции Т-хелперов (супрессорные клетки не вовлечены в реализацию иммуносупрессивного действия диоксина) [Tomar R.S., Kerkvliet N.I., 1991]. Известно, что вызываемое ТХДД нарушение созревания тимоцитов определяется через Ah-рецептор

эпителиальных клеток тимуса крыс (мышей). У человека ТХДД при прямом действии на Ah-рецептор эпителиальных клеток тимуса вызывает аналогичный эффект [Cook J.C. et al.,1986]. Существуют данные, доказывающие, что иммуносупрессия, вызванная ТХДД, может реализовываться путем изменения регуляторных процессов, контролируемых тирозинкиназами [Clark G.C. et al.,1991].

Таким образом, 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксин (1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг) вызывает дозозависимое снижение основных показателей неспецифической резистентности организма и интегральной иммунологической резистентности организма у крыс. Действие 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина в дозах 1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг приводит к прямо связанной с дозой редукции преимущественно Т-независимой гуморальной иммунной реакции и формирования ГЗТ. При действии 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина в дозах 1,0; 4,0 и 8,0 мкг/кг изменения активности естественных клеток-киллеров у крыс не выявлено.

Данные литературы свидетельствуют о том, что Т-лимфоциты играют важную роль в реализации иммуносупрессивного действия 1,2,3,4,6,7,8-гептахлордибензол-n-диоксина (основного иммунотоксического контаминанта пентахлорфенола), так как подавление иммунного ответа на Т-зависимый антиген носило более выраженный характер, чем на Т-независимый. У бестимусных мышей nude иммунодепрессивное действие исследованного соединения было менее выраженным. 1,2,3,4,6,7,8-гептахлорбензол-п-диоксин способствует генерации супрессорных клеток, причем этот эффект не опосредовался через тимус [Kerkvliet N.I., Bramer J.A., 1988]. Известно, что вызываемое Д нарушение созревания тимоцитов определяется через Ah-рецептор эпителиальных клеток тимуса мышей. У человека Д при прямом действии на Ah-рецептор эпителиальных клеток тимуса вызывает аналогичный эффект [Cook J.C. et al.,1986].

Существуют данные, доказывающие, что иммуносупрессия, вызванная Д, может реализовываться путем изменения регуляторных процессов, контролируемых тирозинкиназами [Clark G.C. et al.,1991].

У людей наиболее чувствительны к иммунотоксическому действию Д дети грудного возраста [Vos J.G. et al.,1991]. Установлено, что у рабочих, контактирующих с Д, имеются нарушения клеточного иммунитета и периферической нервной системы [Ahlbborg U.G., 1992]; кроме того, в сыворотке крови у них находили антинуклеарные антитела, иммунные комплексы и

повышенное число естественных киллеров. На наш взгляд увеличение ЕКК обусловлено реакций иммунной системы на удаление поврежденных клеток и клеток с модифицированной генетической информацией.

Таким образом, 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксин путем реализации различных механизмов вызывает нарушения НРО и функции Т и В-системы иммунитета. При этом при действии Д может происходить образование антинуклеарных антител вследствие реализации аутоиммунных реакций.

***

В заключение данной главы, следует отметить, что применение индукторов монооксигеназной системы при остром отравлении токсикантами, метаболизирующимися в организме до высокотоксичных соединений (феномен «летального синтеза»), вызывает увеличение их иммунотоксических свойств, а применение ингибиторов цитохрома Р-450 вызывает обратный эффект вследствие снижения образования продуктов биотрансформации ядов. 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксин путем реализации различных механизмов, в том числе оказывая мощное индуцирующее действие на монооксигеназную систему, вызывает нарушения НРО (доиммунных механизмов защиты от инфекций) и функции Т и В-системы иммунитета. При этом при действии диоксинов может происходить реализация аутоиммунных механизмов.

ГЛАВА 11. ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ TH1- И TH2-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ РАЗЛИЧНЫМИ ТОКСИЧНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Существуют основания полагать, что различные токсичные химические вещества (ТХВ), в частности фосфорорганическое вещество зарин, сернистый иприт (СИ) и другие токсичные химикаты, могут обладать различным влиянием на функцию Th1-, Th2-лимфоцитов, определяя особенности нарушения гуморального и клеточного иммунного ответа, приводящие к инфекционным осложнениям и заболеваниям [Забродский П.Ф., 1998; 2002].

В наших исследованиях оценивались особенности нарушения функции Th1-, Th2-лимфоцитов (Т-хелперов первого и второго типов) и редукции продуцируемых ими цитокинов (ИФН-γ, ИЛ-4) в формирование супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций при остром отравлении различными токсикантами.

Эксперименты проводили на крысах Wistar обоего пола массой 180-240 г. ТХВ вводили подкожно в дозе 0,75 DL_{50}, однократно, через 3 сут после иммунизации Т-зависимым антигеном. (DL_{50} зарина, СИ и метанола составляли соответственно 0,21±0,02, 5,5±0,3 мг/кг и 9,1±1,2 г/кг). Зарин вводили подкожно в водном растворе, СИ – подкожно, в растворе диметилсульфоксида, метанол – перорально). Данные литературы позволяют полагать, что определение методом непрямого локального гемолиза в геле АОК к ЭБ, синтезирующие IgG, на 8 сут характеризует преимущественно функцию Th2-лимфоцитов, обеспечивающих синтез IgG1, составляющих около 70% общего числа молекул данного класса [Ройт А. и соавт., 2000]. Следует отметить, что Th1-лимфоциты обеспечивают возможность образования в этот период антителогенеза кроме IgM, так же и IgG2a, составляющих не более 20% от всех подклассов IgG [Ройт А. и соавт., 2000; Georgiev V.St., Albright J.E.,1993].

Для оценки изменения функции лимфоцитов Th1- и Th2-типа под влиянием ТХВ наряду с исследованием иммунных реакций определяли концентрацию продуцируемых ими цитокинов (соответственно ИФН-γ и ИЛ-4) [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002 Georgiev V.St., Albright J.E., 1993] в периферической крови крыс через 4 и 7 сут после иммунизации методом иммуноферментного анализа по протоколам, указанным в инструкции по применению наборов (BioSource Int. ELISA Kits).

Под влиянием ТХВ (табл. 11.1) происходило снижение

гуморального иммунного ответа через 4 сут к Т-зависимому антигену (по числу АОК в селезенке), характеризующему синтез IgM и функцию Th1-лимфоцитов, по сравнению с контрольным уровнем под влиянием зарина, СИ и метанола соответственно в 2,25; 3,90 и 1,90 раза ($p<0,05$), а через 7 сут отмечалось супрессия продукции IgG, отражающая преимущественно функцию Th2-лимфоцитов, соответственно в 1,52; 3,84 и 2,44 раза ($p<0,05$). При действии зарина, СИ и метанола отмечалась также существенная редукция активности ЕКК, зависящая от функции лимфоцитов Th1-типа, соответственно в 2,29; 3,64 и 1,79 раза ($p<0,05$) и реакции ГЗТ (функция Th1-клеток и макрофагов) [Ройт А. и соавт., 2000] – соответственно в 1,86; 3,71 и 1,53 раза ($p<0,05$).

Т а б л и ц а 11.1

Влияние острой интоксикации ТХВ (0,75 DL_{50}) на показатели системы иммунитета крыс ($M \pm m$, n = 8-11)

Серии опытов	АОК к ЭБ (IgM), $\cdot 10^3$	АОК к ЭБ (IgG), $\cdot 10^3$	ЕЦ,%	ГЗТ, %
Контроль	40,2±3,7	17,3±1,6	30,9±3,1	36,0±2,6
Зарин	17,8±1,8*	11,4±1,1*	13,5±1,8*	19,3±2,1*
Иприт	10,3±0,9*	4,5±0,8*	8,5±0,9*	9,7±1,0*
Метанол	21,2±1,9*	7,1±0,9*	17,3±2,1*	23,5±2,2*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Показатели, характеризующие различные иммунные реакции и связанную с ними функцию Th1- и Th2-лимфоцитов, при действии зарина в среднем снижались соответственно в 2,13 и 1,52 раза, при отравлении СИ - в 3,75 и 3,84 раза соответственно, а метанолом - в 1,74 и 2,44 раза. Это свидетельствует о том, что под влиянием антихолинэстеразного токсиканта зарина в существенно большей степени поражается функция Th1-лимфоцитов, при действии СИ – функция Th1- и Th2-лимфоцитов нарушается в равной степени, а метанол вызывает редукцию активности преимущественно лимфоцитов Th2-типа. При действии метанола иммунотоксический эффект, преимущественно связанный с продукцией IgG, обусловлен также и супрессией функции В-лимфоцитов вследствие нарушения обмена фолиевой кислоты [Забродский П.Ф., 2005].

Данное заключение подтверждается исследованием концентрации цитокинов в периферической крови крыс (табл. 12.2). При интоксикации зарином выявлено уменьшение концентрации ИФН-γ и ИЛ-4 на 5 сут соответственно в 2,04 и 1,49 раза ($p<0,05$), а на 8 сут -

в 2,49 и 1,87 раза (p<0,05) соответственно.

Т а б л и ц а 11.2

Влияние подострой интоксикации ТХВ (0,75 DL_{50}) на содержание цитокинов в периферической крови крыс, г/мл ($M \pm m$, n =6)

Серии опытов		ИФН-γ	ИЛ-4	ИФНγ/ИЛ-4
Контроль		845±71	116±12	7,3
Зарин	5	414±45*	78±8*	5,3
	8	341±35*	62±7*	5,5
Иприт	5	297±30*	43±5*	6,9
	8	243±25*	32±4*	7,6
Метанол	5	682±54*	61±6*	11,2
	8	658±58*	69±7*	9,5

Примечание: 5, 8 - время исследования после иммунизации, сут; * – p<0,05 по сравнению с контролем.

Иприт снижал содержание в периферической крови ИФН-γ и ИЛ-4 на 5 сут соответственно в 2,85 и 2,70 раза (p<0,05), а на 8 сут - в 3,48 и 3,62 раза (p<0,05) соответственно. Концентрация в крови ИФН-γ и ИЛ-4 на 5 сут после действия метанола уменьшалась в 1,24 и 1,90 раза (p<0,05) соответственно, а на 8 сут - в 1,28 и 1,68 раза (p<0,05) соответственно. При отравлении ипритом снижение цитокинов в крови было более выражено по сравнению с действием зарина и метанола, при этом эффект зарина в отношении ИФН-γ превышал супрессирующее действие метанола (p<0,05).

Полученные данные свидетельствуют о том, что при действии зарина концентрация ИФН-γ по сравнению с ИЛ-4 в крови снижается в большей степени, при интоксикации СИ содержание в крови ИФН-γ и ИЛ-4 уменьшается в равной степени. Метанол вызывал редукцию ИФН-γ по сравнению с ИЛ-4 в меньшей степени.

Как уже указывалось, ИФН-γ продуцируют Th1-лимфоциты, а ИЛ-4 – Th2-лимфоциты [Ройт А. и соавт., 2000]. Увеличение соотношения ИФН-γ/ИЛ-4 характеризует снижение функциональной активности лимфоцитов Th2-типа по сравнению с функцией Th1-клеток, а уменьшение данного соотношения свидетельствует о большей редукции активности лимфоцитов Th1-лимфоцитов по сравнению с Th2-клетками [Сухих Г.Т. и соавт., 2005]. Нами установлено, что соотношение ИФН-γ/ИЛ-4 при отравлении зарином составляло на 5 и 8 сут соответственно 5,3 и 5,5; при действии СИ – 6,9 и 7,6 соответственно, а при интоксикации метаном – 11,2 и 9,5 (контроль – 7,3). Это подтверждает результаты, свидетельствующие

об особенностях поражения Th1- и Th2-клеток различными токсикантами. Вероятно, супрессирующий эффект зарина в отношении преимущественно Th1-лимфоцитов обусловлен активацией гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и редукцией функции данной субпопуляции Т-лимфоцитов, которые более чувствительны к кортикостероидам (КС) по сравнению с Th1-лимфоцитами [Ройт А. и соавт., 2000]. Поражение СИ лимфоцитов Th1- и Th2-типа связано с его алкилирующим действием в отношении ДНК этих клеток. Более выраженный супрессирующий эффект метанола в отношении иммунной реакции, сопряженной с функцией Th2-лимфоцитов, а также редукция продукции ими ИЛ-4, вероятно, обусловлены мембранотоксическим действием метанола, взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации метанола - формальдегида и муравьиной кислоты, ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования именно данной субпопуляции лимфоцитов [Tephly T.R., 1991]. Существуют основания полагать, что при отравлении метанолом роль КС, снижающих функцию преимущественно Th1-лимфоцитов, менее значима, чем при действии антихолинэстеразного ТХ зарина [Pruett S.B. et al., 2003].

Таким образом, острое действие ТХВ (0,75 DL_{50}) в продуктивный период иммуногенеза (через 3 сут после иммунизации) снижает гуморальные и клеточные иммунные реакции и продукцию Th1- и Th2-лимфоцитами соответственно ИФН-γ и ИЛ-4. Острое отравление зарином в большей степени уменьшает иммунные реакции, связанные с функцией Th1-лимфоцитов по сравнению с иммунным ответом, обусловленным активацией Th2-лимфоцитов. Иммунные реакции, связанные с функцией Th1- и Th2-лимфоцитов, при острой интоксикации сернистым ипритом супрессируются в равной степени, а острое действие метанола в дозе 0,75 DL_{50} в продуктивный период иммуногенеза вызывает редукцию иммунных реакций, обусловленных активностью Th1-лимфоцитов, в меньшей степени по сравнению с иммунным ответом, связанным с функцией Th2-клеток.

***

В заключение необходимо подчеркнуть, что в зависимости от токсикодинамики и токсикокинетики ксенобиотиков функции Th1- и Th2-лимфоцитов могут нарушаться в различной степени, что

определяет особенности формирования иммунного ответа после интоксикации и выбор фармакологических средств иммунореабилитации.

ГЛАВА 12. ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ. КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ КСЕНОБИОТИКАМИ

12.1. Классификация иммуностимуляторов. Общая характеристика

Анализ обширной литературы, посвященной лекарственным средствам, обладающим выраженными иммунотропными эффектами, позволяет считать, что иммуномодуляторами являются вещества, способные вызывать иммунодепресию и иммуностимуляцию, а также оказывать активирующеее или супрессирующее действие на систему иммунитета в зависимости от ее функционапльного состояния. К иммуностимуляторам обычно относят соединения, способные увеличивать нормальный или пониженный гуморальный и клеточный иммунный ответ [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985]. Иммуностимуляторы по основным функциональным признакам подразделяются на препараты, стимулирующие преимущественно НРО (продигиозан, метилурацил, витамин С, пентоксил, нуклеинат натрия), клеточный иммунитет (тималин, тактивин, тимоптин, тимоген, витамин А, молграмостин, леакадин), В-систему иммунитета (миелопид, спленин) [Виноградов В.М. и соавт., 1986; Утешев Б.С. и соавт., 1995].

Иммуностимуляторы по происхождению подразделяются на продукты жизнедеятельности микроорганизмов, растений и животных (полисахариды, фосфолипиды мембран, гликопептиды, модифицированные токсины, ДНК и РНК микроорганизмов, вакцины и др.) [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Виноградов В.М. и соавт., 1986; Khaitov R.M., 1993] , пептидные эндогенные стимуляторы иммунитета (препараты тимуса, селезенки, костного мозга, интерлейкины и др.) [Арион В.Я.,1981; Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., 1978, 1983; Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. 1981, 1982; Яковлев Г.М. и соавт., 1987; Minich E. et al., 1983; Georgiev V.St. et al; Stevens G., 1993], синтетические стимуляторы иммунитета (левамизол, леакадин, тимоген) [Утешев Б.С. и соавт., 1995; Kimball E. S., 1993; Janik J., 1993; Sosa A. et al.,1993], стимуляторы метаболических процессов [экстраиммунная терапия] (анаболические гормоны, рибоксил, плазмол, витамины и др.) [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Хаитов Р.М. и соавт., 1995]. Лекарственные средства, применяющиеся для фармакологической коррекции дизадаптационных расстройств из

групп, относящихся к антигипоксантам, психоэнергизаторам, актопротекторам (пирроксан, цитохром С, олифен, бемитил, пирацетам, оротат калия, инозин), способны также восстанавливать нарушения функций системы иммунитета [Хаитов Р.М. и соавт., 1995].

Сравнительная характеристика действия некоторых иммуностимуляторов на НРО, клеточный и гуморальный иммунитет [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Янковский О.Г., Захарова Л.А., 1990; Арион В.Я., 1984,1987, 1991; Земсков В.М., 1991; Петров Р.В., 1991; Ширинский В.С., Жук Е.А.,1991;1994; Утешев Б.С. и соавт., 1995 и др.] показывает, что для коррекции нарушений иммунного статуса после острого отравления холинотропными веществами могут быть использованы наиболее перспективнные иммуностимуляторы тимоген, Т-активин, миелопид и имунофан.

Число существующих в настоящее время средств коррекции нарушений системы иммунитета включает несколько сотен соединений, однако широко используются лишь несколько десятков из них. Необходимо учитывать, что практически все иммуностимуляторы имеют те или иные нежелательные побочные эффекты. При применении тимогена, Т-активина и имунофана они не выявлены. Миелопид может вызывать головокружение, слабость, тошноту, гиперемию и болезненность в месте введения, повышение температуры тела [Хавинсон В.Х. и соавт., 1990; Забродский П.Ф. и соавт., 2001].

Помимо имеющихся в настоящее время данных об иммунотропных эффектах различных ядов при назначении иммуностимуляторов при острых и хронических отравлениях, необходимо руководствоваться поставленным иммунологическим диагнозом [Ширинский В.С., Жук Е.А.,1991;1994; Хаитов Р.М. и соавт., 2002].

Клеточный иммунитет, который в наибольшей степени поражается при интоксикации всеми холинотропными веществами в больших дозах (следует учитывать, что стимуляторы Т-звена иммунитета обязательно будут активировать в той или иной степени В-систему иммунитета, тесно связанную и зависимую от функции Т-клеток) может коррегироваться тималином, Т-активином, тимоптином, тимогеном и другими препаратами, полученными из тимуса, и их синтетическими аналогами [Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., 1978, 1983; Арион В.Я.,1981; Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. 1981, 1982; Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Виноградов В.М. и соавт., 1986; Яковлев Г.М. и соавт., 1987; Базарный В.В., Ястребов А.П., 1990; Белокрылов

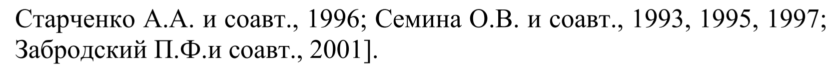
Г.А. и соавт., 1991; Утешев Б.С. и соавт., 1995; Забродский П.Ф. и соавт., 2000; Minich E. et al., 1983; Georgiev V.St. et al; 1993; Khaitov R.M., 1993; Kimball E. S., 1993; Janik J., 1993; Stevens G., 1993; Sosa A. et al., 1993].

Изучение иммуностимулирующих характеристик различных препаратов [Осипова Л.О.,1990; Хавинсон В.Х. и соавт., 1990; Яковлев Г.М. и соавт., 1990; Гюллинг Э.В. и соавт., 1991; Земсков В.М., 1991; Петров Р.В., 1991; Ширинский В.С., Жук Е.А.,1991;1994; Семина О.В. и соавт., 1993, 1995,1997; Юшков В.В. и соавт., 1993; Утешев Б.С. и соавт., 1995; Ершов Ф.И., 1995; Невидимова Т.И. и соавт., 1995; Жук Е.А. и соавт., 1996; Старченко А.А. и соавт., 1996; Кирилина Е.А. и соавт., 1998; Забродский П.Ф. и соавт., 2001] показывает, что наиболее эффективным при нарушении Т-звена иммунитета и снижении активности ЕКК являются тимоген и Т-активин. Существуют основания считать, что для восстановления показателей В-системы иммунитета после острых интоксикаций холинергическими веществами может быть применен миелопид [Михайлова А.А. и соавт., 1989; Мухамбетов Д.Д. и соавт., 1990].

К средствам экстраиммунной терапии, которые активируют НРО, гуморальные и клеточные иммунные реакции, относятся стимуляторы метаболических процессов (анаболические гормоны, рибоксил, плазмол, витамины и др.) [Плецитый К.Д., Сухих Г.Г., 1984, 1985; Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Забродский П.Ф., 1996; Хаитов Р.М. и соавт., 1995].

12.2. Гормоны тимуса и их синтетические аналоги

Тимоген представляет собой соединение двух молекул аминокислот – глутамина и триптофана. Данный препарат является синтетически полученным дипептидом. Он оказывает регулирующее влияние на реакции клеточного, гуморального иммунитета и НРО, стимулирует процессы регенерации в случаях их угнетения, а также улучшает течение клеточного метаболизма [Петрова Т.А и соавт.,1989; Хавинсон В.Х. и соавт., 1990]. Тимоген усиливает процесы дифференцировки антигенов на поверхности лимфоцитов и нормализует количество Т-хелперов, клеток-супрессоров и их соотношение при различных иммунодефицитных состояниях [Петрова Т.А и соавт.,1989; Осипова Л.О.,1990; Хавинсон В.Х. и соавт., 1990; Юшков В.В. и соавт., 1993; Утешев Б.С. и соавт., 1995; Ершов Ф.И., 1995; Невидимова Т.И. и соавт., 1995; Жук Е.А. и соавт., 1996;


Старченко А.А. и соавт., 1996; Семина О.В. и соавт., 1993, 1995, 1997; Забродский П.Ф.и соавт., 2001].

В условиях стресса тимоген в дозе 100 мкг в опытах на мышах линии СВА приближал сниженные показатели системы иммунитета (количество клеток в тимусе, индекс цитотоксичности тимоцитов) к контрольным значениям [Невидимова Т.И. и соавт., 1995]. Вполне закономерно, что аналогичные свойства тимогена будут проявляться и при отравлениях различными ксенобиотиками. Тимоген in vitro влияет на функцию "активных" розеткообразующих лимфоцитов и на реактивность базофилов периферической крови [Осипова Л.О.,1990; Гюллинг Э.В. и соавт., 1991]. Данный препарат коррегирует стресс-индуцированные дисфункции иммунной системы [Яковлев Г.М., Хавинсон В.Х. 1989], обладает противовосполительным действием, механизм которого, возможно, включает снижение чувствительности тканей к медиаторам воспаления и усиление синтеза антигистаминовых и антисеротониновых антител, нейтрализующий характер которых и их патогенетическая роль показаны на моделях агарового и серотонинового воспаления [Яковлев Г.М. и соавт., 1990; Юшков В.В. и соавт., 1993]. Тимоген оказывает стимулирующее действие практически на все звенья дифференцировки Т-лимфоцитов (от стволовой клетки до эффекторов клеточного иммунитета), что выражается в значительном повышении функции клеточного и гуморального звеньев иммунитета и НРО. Тимоген усиливает процессы дифференцировки лимфоидных клеток, индуцирует экспрессию дифференцировочных антигенов, нормализует количество Т-хелперов, популяций лимфоцитов, выполняющих роль Т-супрессоров, и В-клеток, восстанавливает коэффициент дифференцировки иммунокомпетентных клеток. По своей биологической активности тимоген в 10-100 раз, а в отдельных случаях в 1000 раз превосходит природный препарат тимуса тималин [Яковлев Г.М. и соавт., 1990]. По показаниям к применению, тимоген в основном сходен с другими иммуностимуляторами и используется в комплексной терапии взрослых и детей при острых и хронических инфекционных заболеваниях, сопровождающихся снижением показателей клеточного иммунитета, при угнетении репаративных процессов после тяжелых травм, а также при других иммунодефицитных состояниях [Машковский М.Д., 2004].

Положительным свойством препарата является отсутствие побочных эффектов при лечении и совместимость практически со всеми лекарственными препаратами различных фармакологических

групп и его использование с традиционными методами лечения [Яковлев Г.М. и соавт., 1990; Невидимова Т.И. и соавт., 1995; Утешев Б.С. и соавт., 1995]. В экспериментах на животных иммуностимулирующая доза тимогена в зависимости от патологического состояния и вида животных находится в пределах от 1 до 100 мкг/кг [Невидимова Т.И. и соавт., 1995; Забродский П.Ф. и соавт., 1999, 2001]. При отравлениях дихлорэтаном, нитрилами, спиртами и холинотропными препаратами, в частности ФОС, тимоген способен в той ли иной степени восстанавливать некоторые показатели системы иммунитета [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., 1997].

Т-активин является иммуномодулирующим препаратом полипептидной природы, полученный из вилочковой железы крупного рогатого скота. При иммунодефицитных состояниях нормализует количественные и функциональные показатели Т-системы иммунитета, стимулирует продукцию лимфокинов, в том числе интерферонов, нормализует другие показатели клеточного иммунитета. Применяют у взрослых в комплексной терапии инфекционных, гнойных, септических процессов и других заболеваний, сопровождающихся иммунодефицитным состоянием с преимущественным поражением Т-системы иммунитета [Мухамбетов Д.Д. и соавт., 1990].

Препарат противопоказан при атопической форме бронхиальной астмы и беременности [Машковский М.Д.,1993]. Показана эффективность Т-активина при отравлениях хлорорганическими соединениями [Вахидова Г.А. и соавт.,1990].

Имуностимулятор Т-активин обладает способностью активировать выработку γ-интерферона Т-лимфоцитами [Вахидова Г.А. и соавт., 1990; Борисова А.М. и соавт., 1991; Ханафиева и соавт., 1992; Базарный В.В., Ястребов Ф.П., 1993; Машковский М.Д., 1993]. Этот лимфокин активирует ЕКК и восстанавливает постинтоксикационное нарушение их функции, а также индуцирует экспрессию рецепторов ИЛ-2 на их поверхности [Сухих Г.Т. и соавт., 1984]. Препарат оказывает существенное иммуномодулирующее влияние на функцию макрофагов и различные иммунные реакции в очень широком диапазоне доз: от 0,001 до 5 мкг/кг [Большаков и соавт., 1991; Кирилличева Г.Б. и соавт., 1993]. В литературе описаны свойства Т-активина увеличивать пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность Т-клеток [Шляхов Э.Н., Гылка В.В., 1989; Арион В.Я. и соавт., 1989; Стасий Е.Д. и соавт., 1990; Арион

В.Я., Иванушкин Е.Ф., 1991].

В последнее время экспериментально доказано, что Т-независимый иммунный ответ на антигены 2-го класса, к которым относятся полисахариды бактериальных стенок и, в частности, Vi-Ag, обеспечивается взаимодействием В-лимфоцитов с тимуснезависимыми Т-лимфоцитами (Тγδ) [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Поэтому вполне логично предположить, что Т-активин способен стимулировать и тимуснезависимый гуморальный иммунный ответ, активируя Тγδ. Кроме того, Т-активин, повышая функцию макрофагов [Таранов В.А., Короткова М.И., 1989], приводит к увеличению ими продукции ИЛ-1, который может активировать тимуснезависимое антителообразование [Gillbert K. M. et al., 1985] при остром отравлении различными холинергическими препаратами.

12.3. Миелопид

Миелопид – иммуностимулирующий препарат пептидной природы, получаемый из культуры клеток костного мозга млекопитающих (свиней или телят). При иммунодефицитных состояниях миелопид восстанавливает показатели В- и Т-систем иммунитета, стимулирует продукцию антител и функциональную активность иммунокомпетентных клеток и способствует восстановлению ряда других показателей гуморального звена иммунитета. Миелопид повышает функциональную активность лейкоцитов периферической крови [Подосинников И.С. и соавт., 1991]. При наличии дисбаланса клеток $CD8^+/CD4^+$ в организме миелопид восстанавливает нормальное соотношение этих субпопуляций Т-лимфоцитов, что приводит к коррекции уровня антителообразования [Кирилина Е.А. и соавт., 1998]. В продуктивной фазе иммунного ответа миелопид индуцирует 2-3-кратное увеличение продукции иммуноглобулинов, усиливает фагоцитоз макрофагами и нейтрофилами, коррегирует некоторые врожденные и приобретенные дефициты Т- и В-системы иммунитета [Mikhailova A.A. et al., 1990]. Доказана способность миелопида коррегировать дифференцировку кроветворных клеток-предшественников у мышей с экспериментальным Т-иммунодефицитом [Петров Р.В. и соавт., 1989; Руднева Т.Б. и соавт., 1989]. При изучении действия миелопида на иммунный гомеостаз в постреанимационный период показано, что данный иммуностимулятор активирует преимущественно гуморальные иммунные реакции [Мухамбетов Д.Д., 1990]. В

последние годы выделены и структурно охарактеризованы 6 типов миелопидов (МП-1, МП-2 и др.), каждый из которых действует на определенные показатели НРО и системы иммунитета [Михайлова А.А., 1997].

Применяют миелопид у взрослых при вторичных иммунодефицитных состояниях с преимущественным поражением гуморального звена иммунитета, в том числе для предупреждения инфекционных осложнений после хирургических вмешательств, травм, остеомиелита [Степаненко Р.Н. и соавт., 1991], в комплексном лечении ожоговой болезни [Турсунов Б.С. и соавт., 1992] и других патологических процессов, сопровождающихся воспалительными осложнениями, а также для лечения осложнений при неспецифических легочных заболеваниях, хронических пиодермиях и др. Применение миелопида является частью комплексной терапии указанных заболеваний [Машковский М.Д., 2004]. Стресс-протективное действие миелопида может быть эффективно использованио для профилактики различных стресс-индуцированных иммунодефицитных состояний [Михайлова А.А. и соавт., 1989]. Очевидно, что при отравлении холинергическими веществами миелопид способен оказывать иммунопротективное и иммуностимулирующее действие.

При применении миелопида возможны головокружение, слабость, тошнота, гиперемия и болезненность в месте введения, повышение температуры тела [Машковский М.Д., 2004].

12.4. Имунофан

Исследованиями последних лет показано, что имунофан (аргинил-альфа-аспартил-лизил-тирозил-аргинин) – гексапептид с молекулярной массой 836 Да. Препарат относится к синтетическим иммуностимуляторам, обладает иммунорегулирующим, детоксикационным, гепатопротективным действием и вызывает инактивацию свободнорадикальных процессов ПОЛ [Покровский В.И. и соавт., 1997; Лебедев В.В. и соавт., 2000]. Фармакологическое действие пептидного иммунооксидредуктанта основано на достижении коррекции иммунной и окислительно-антиокислительной систем организма. Действие препарата начинает развиваться в течение 2-3 часов (быстрая фаза) и продолжается до 4 мес (средняя и медленная фазы).

В течение быстрой фазы (продолжительность до 2-3 суток) прежде

всего, проявляется детоксикационный эффект – усиливается антиоксидантная защита организма путем стимуляции продукции церулоплазмина, лактоферрина, активности каталазы. Препарат нормализует перекисное окисление липидов, ингибирует распад фосфолипидов клеточной мембраны и синтез арахидоновой кислоты с последующим снижением уровня холестерина в крови и продукции медиаторов воспаления. При токсическом и инфекционном поражении печени имунофан предотвращает цитолиз, снижает активность трансаминаз и уровень билирубина в сыворотке крови [Караулов А.В., 2000а, 2000б; Константинов Б.А. и соавт, 2000; Лебедев В.В. и соавт., 2000].

В течение средней фазы (начинается через 2-3 суток, продолжительность – до 7-10 суток) происходит усиление реакций фагоцитоза и гибели внутриклеточных бактерий и вирусов. В течение медленной фазы (начинает развиваться на 7-10 сут, продолжительность до 4 месяцев) проявляется иммунорегуляторное действие препарата – восстановление нарушенных показателей клеточного и гуморального иммунитета. В этот период наблюдается восстановление иммунорегуляторного индекса, отмечается увеличение продукции иммуноглобулинов [Лебедев В.В. и соавт., 2000; Бажигитова Б.Б., Шортанбаев А.А., 2003; Михайлова М.Н. и соавт., 2003; Попова Е.А. и соавт., 2003; Щеглова М.Ю., Макарова Г.А., 2003].

Влияние препарата на продукцию специфических противовирусных и антибактериальных антител эквивалентно действию некоторых лечебных вакцин. В отличие от последних препарат не оказывает существенного влияния на продукцию реагиновых антител класса IgE и не усиливает реакцию гиперчувствительности немедленного типа [Лебедев В.В., 1999; Лебедев В.В., Покровский В.И. , 1999а, 1999б].

Имунофан в отличие от тимогена и Т-активина способен оказывать не только иммуностимулирующее влияние на все звенья системы иммунитета, но и обеспечивать детоксицирующий, гепатопротективный и антиоксидантный эффекты [Покровский В.И. и соавт., 1997; Лебедев В.В., 1999; Лебедев В.В., Покровский В.И. , 1999а, 1999б; Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2001]. Антиоксидантное действие имунофана предотвращает повреждение ДНК лимфоцитов и гранулоцитов, вызванное гонотоксическими факторами окружающей среды (токсикантами) [Караулов А.В. и соавт., 2005].

Нами установлено (см. предыдущие главы), что применение имунофана в дозе 10 мкг/кг через 5 сут после отравления различными ТХВ (ФОВ, соединениями мышьяка, и ДХЭ) восстанавливало Т-зависимое антителообразование, АЗКЦ, активность ЕКК, реакции ГЗТ. Имунофан, вызывая инактивацию свободнорадикальных и перекисных соединений, способствует восстановлению иммунного статуса после отравления различными ТХВ. Фармакологическое действие данного пептидного иммуноксидредуктанта основано на коррекции иммунной, антиоксидантной системы и тесно связанным с ней ПОЛ.

12.5. Полиоксидоний

Полиоксидоний (ПО) – это физиологически активное соединение с молекулярной массой 100 кДа, обладающее выраженной иммуномодулирующей активностью. По своей химической структуре он является сополимером N-окиси 1,4-этиленпиперазина и (N-карбоксиэтил)-1,4-этиленпиперазиния бромида с молекулярной массой 80 кДа [Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005]. Он является иммуномодулятором последнего поколения, обладает иммуностимулирующими, детоксиксикационными, антиоксидантными и мембраностабизизирующими эффектами. При совместном введении ПО и $CuSO_4$ происходит 100%-ная защита животных от действия ядовитого сульфата меди при 100%-ной гибели их в контроле [Пинегин Б.В., и соавт., 2004; Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005] и свойствами гепатопротектора [Ратькин А.В. и соавт., 2005]. Полиоксидоний оказывает активирующее действие на неспецифическую резистентность организма, фагоцитоз, гуморальный и клеточный иммунитет, действует на все звенья иммунного ответа, а также обладает способностью активировать ЕКК. Повышает функцию ЕКК ПО только в том случае, если она была исходно понижена. На нормальные уровни цитотоксичности лимфоцитов он влияния не оказывает [Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Пинегин Б.В., и соавт., 2004; Dyakonova V.A. et al.. 2004].

Одним из главных биологических свойств ПО является его способность стимулировать антиинфекционную резистентность организма. Предварительное его введение за 48, 72 и 96 ч может существенно повысить устойчивость животных к заражению несколькими DCL патогенного микроорганизма *S. typhimurium*, вероятно, в связи с его способностью существенно повышать

функциональную активность клеток фагоцитарной системы. ПО в 1,5-2 раза усиливает способность фагоцитов периферической крови нормальных доноров убивать *S. aureus* и это усиление носит дозозависимый характер. Препарат обладает способностью активировать кислородонезависимые механизмы бактерицидности лейкоцитов. Полиоксидоний подавляет образование внеклеточных, но стимулирует образование внутриклеточных активных форм кислорода, от которых, как отмечалось, зависит гибель бактерии в клетке. Ингибиция образования внеклеточных активных форм кислорода лейкоцитами можно рассматривать как положительный эффект этого иммуномодулятора, так как их избыточное образование лежит в основе повреждающего действия активированных нейтрофилов на различные ткани и органы. Полиоксидоний в определенных дозах обладает способностью стимулировать как спонтанный, так и индуцированный синтез цитокинов, продуцируемых в основном клетками моноцитарно-макрофагальной системы и нейтрофилами: IL-1β, IL-6, TNFα [Пинегин Б.В., и соавт., 2004], которые являются одними из главных активаторов функциональной активности фагоцитарных клеток [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2002; Пинегин Б.В., и соавт., 2004; Dyakonova V.A. et al.. 2004]. При этом он ведет себя как истинный иммуномодулирующий препарат, то есть усиливает образование TNF только у лиц с исходно пониженным или среднем уровнем синтеза цитокина и не оказывает влияния или даже несколько понижает продукцию у лиц с исходно повышенным его синтезом. Вероятно, способность ПО индуцировать образование и провоспалительных (IL-1 и TNF), и противовоспалительных цитокинов (IL-6) лежит в основе его иммуномодулирующего эффекта. В условиях in vivo ПО обладает выраженной способностью стимулировать гуморальный иммунный ответ. При введении совместно с низкими дозами антигена препарат усиливает антителообразование в 5-10 раз по сравнению с животными, получавшими только один антиген. Важно отметить, что такое усиление можно наблюдать у старых мышей, у которых иммунный ответ по сравнению с молодыми животными существенно снижен [Пинегин Б.В., и соавт., 2004; Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2005].

Таким образом, полиоксидоний может являться препаратом выбора при нарушении иммунного гомеостаза ТХ (и другими ксенобиотиками). Антиоксидантное действие полиоксидония, как и имунофана, возможно, предотвращает повреждение ДНК лимфоцитов и гранулоцитов, вызванное различными токсикантами [Караулов А.В.

и соавт., 2005].

Нами была показана (см. предыдущие главы) иммунопротективная эффективность ПО при остром отравлении крыс ипритом и люизитом в дозе 0,5 $DL_{50.}$

Применение ПО частично восстанавливало показатели системы иммунитета после острого действия ТХ, при этом после отравления люизитом статистически значимых различий параметров по сравнению с контролем не выявлено ($p>0,05$).

ПО практически полностью и частично восстанавливает параметры системы иммунитета и связанные с ними показатели ПОЛ (и АОС) соответственно при остром отравлении люизитом и ипритом вследствие антиоксидантных, иммуностимулирующих, детоксиксикационных и мембраностабилизирующих свойств иммуностимулятора.

Таким образом, острое отравление токсичными химикатами ипритом и люизитом в дозе 0,5 DL_{50} снижает показатели системы иммунитета (Т-зависимый и Т-независимый гуморальный иммунный ответ, антителозависимую клеточную цитотоксичность, активность ЕКК, реакцию ГЗТ). Применение полиоксидония в дозе 100 мкг/кг в течение 4 сут (ежедневно, однократно) после острого действия иприта и люизита (0,5 DL_{50}) соответственно частично и практически полностью восстанавливает параметры иммунной системы и связанные с ними показатели ПОЛ.

***

Помимо иммуностимуляторов, для коррекции нарушений иммунного гомеостаза после острых отравлениий ТХВ могут быть использованы специфические (антидотные) средства их лечения.

Таким образом, сравнительная оценка эффективности тимогена, Т-активина, миелопида, имунофана и полиоксидония позволит рекомендовать данные препараты (наиболее эффективные из них) для изолированного или комбинированного применения с целью восстановления доиммунных механизмов защиты, клеточного и гуморального иммунного ответа после отравления ТХ и другими ксенобиотиками, сопровождаемого применением антидотов, для коррекции нарушений доиммунных механизмов защиты организма от инфекции и иммунного статуса с целью профилактики инфекционных осложнений и заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные о влиянии ксенобиотиков на систему иммунитета имеют как теоретическое значение, раскрывая неизвестные механизмы регуляции иммуногенеза, так и практическое, позволяя пересматривать предельно допустимые концентрации различных химических соединений, проводить научно обоснованные профилактику и лечение возникающих при острых и хронических интоксикациях токсикантами многочисленных инфекционных, аллергических, аутоиммунных и онкологических заболеваний в результате дисфункций системы иммунитета.

Механизмы иммуносупрессивных эффектов токсикантов реализуются, во-первых, на субклеточном уровне (воздействие на рецепторы иммуноцитов и других клеток крови), изменение обмена циклических нуклеотидов, инициация апоптоза), во вторых, на клеточном уровне (модификация мембраны клетки, изменение экспрессии антигенных детерминант, изменение синтеза цитокинов), в третьих, на уровне межклеточных взаимодействий, которые могут приводить к ингибированию эффекторных функций иммуноцитов, в-четвертых, на уровне организма (изменение функции парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатико-адреналовой систем). Точками приложения токсикантов могут являться эфферентная, центральная или аффекторная фазы иммуногенеза. Ксенобиотики могут действовать на распознавание антигена, его процессинг в макрофагах, активацию, пролиферацию и дифференцировку иммуноцитов.

Основными механизмами нарушения регуляции иммуногенеза и функции Т- и В-звена иммунитета ксенобиотиками, приводящими к постинтоксикационному иммунодефицитному состоянию, являются: изменение перераспределения иммуноцитов между органами системы иммунитета; нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов, ведущее к снижению антителообразования вследствие преимущественного поражения Т-лимфоцитов (Th1- и Th2-типа); ингибирование рядом токсикантов (ФОС, хлорированные углеводороды, тетраэтилсвинец, иприт) ацетилхолинэстеразы Т-клеток, а также α-нафтил-AS-ацетатэстеразы и α-нафтил-бутиратэстеразы Т-лимфоцитов, моноцитов и макрофагов; действие на холинорецепторы иммунокомпетентных клеток высоких концентраций ацетилхолина при отравлении ФОС; иммуносупрессивный эффект

кортикостероидов; инициация ПОЛ лимфоцитов и других клеток крови.

Нарушение иммунного гомеостаза при действии ксенобиотиков можно устранить или уменьшить путем применения иммуномодуляторов, способных оказывать активирующее или супрессирующее действие на систему иммунитета в зависимости от ее функционального состояния.

Сравнительная характеристика действия некоторых иммуностимуляторов на доиммунные механизмы защиты, клеточный и гуморальный иммунитет показывает, что для коррекции нарушений иммунного статуса после острого отравления различными ксенобиотиками могут быть использованы иммуностимуляторы тимоген, Т-активин, миелопид, имунофан, полиоксидоний и их комбинации в сочетании с антидотами и средствами, снижающими токсический эффект ядов (например, фолинат кальция при интоксикации метанолом).

Данная монография не дает полных ответов на далеко неоднозначные иммунологические феномены при действии десятков тысяч ксенобиотиков. Нашей задачей являлось обобщение данных литературы и результатов собственных исследований для понимания механизмов нарушения иммунного гомеостаза различными токсикантами с целью целенаправленной его коррекции.

Нерешенность многих вопросов, противоречивость и неоднозначность результатов исследований механизмов нарушения регуляции иммуногенеза, Т- и В-звена иммунитета после интоксикации различными ксенобиотиками предполагает дальнейшее изучение этой проблемы, решение которой позволит существенно снизить смертность больных при отравлениях, их инвалидизацию, а также продолжительность их лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашидова Н.Ф., Романов Ю.А. Состояние эритроцитарной системы и ПОЛ-окислительной активности у больных хроническим бронхитом, вдыхавших и не вдыхавших озон // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.132, №9. – С. 317-319.
2. Абрамов В.В., Ширинский В.С., Лозовой В.П., Козлов В.А. Влияние ацетилхолина на синтез Ig G и пролиферацию лимфоцитов в культуре мононуклеаров, выделенных от больных ревматоидным артритом, раком молочной железы и здоровых доноров // Иммунология.-1986.-№ 6.-С. 83-86.
3. Абрамовская Л. В. Морфофункциональная характеристика органов иммунной системы при экспериментальной ожоговой травме: Дис. … канд. мед. наук. - Челябинск, 1985. - 255 с.
4. Агапов В.И., Гладких В.Д., Кирьянов В.В., Колосов Р.В., Кулажин О.А. Изменение неспецифической и иммунологической резистентности при остром отравлении норборнаном // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты – СПб.: ООО «Изд. Фолиант», 2004.- С. 74-75.
5. Адо А.Д. Некоторые вопросы нервной регуляции иммунных и аллергических реакций (об отношении холиновых и антигенсвязывающих рецепторов // Эксперим. и клин. фармакология.-1995.- № 3.-С.43-45.
6. Адо А.Д., Алексеева Т.А. О влиянии некоторых соединений холина на розеткообразование лимфоцитов у мышей //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1983.-Т. 46, № 7.-С. 75-77.
7. Адо А.Д., Алексеева Т.А., Авдеева Т.А. О взаимодействии холиновых и иммунных рецепторов В-лимфоцитов человека //Иммунология. - 1985.- № 4.-С. 57-59.
8. Адо А.Д., Алексеева Т.А.,., Кравченко С.А. О взаимодействии иммунных и медиаторных рецепторов лимфоцитов мышей //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1985.-Т. 99, № 5.-С. 513-515.
9. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Донцов В.И. Ацетилхолининдуцированная подвижность лимфоцитов интактных и сенсибилизированных мышей //Бюл. эксперим. биологии и медицины.-1983.-№ 4, -С. 66-67.
10. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Донцов В.И. Влияние холино- и адреномиметических веществ на пролиферацию В-лимфоцитов мыши во время первичного иммунного ответа на белковый антиген //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1985.-Т. 100, № 5.-С. 587-588.
11. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Кравченко С.А., Фоминова Т.И. Влияние антиглобулиновой сыворотки на экспрессию М-холинорецепторов лимфоцитов селезенки интактных и иммунизированных крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1987.-Т. 104, № 9.-С. 325-327.
12. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Кравченко С.А., Фоминова Т.И. М-холинорецепторы В-лимфоцитов мыши в процессе иммунного ответа //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1986.-Т. 101, № 5.-С. 587-588.
13. Адо А.Д., Донцов В.И. Индукция подвижности В-лимфоцитов мышей ацетилхолином и веществами, увеличивающими уровень цГМФ // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1984. - Т. 47, № 2. - С. 177 - 178.
14. Адо А.Д., Донцов В.И., Гольдштейн М.М. Регуляция клеточного цикла В-лимфоцитов мыши веществами, увеличивающими уровень внутриклеточного цАМФ и цГМФ //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1985.-Т. 99, № 4.-С. 455-458.
15. Александров В. Н. Патология иммунной системы при травме // Пат. физиол. и

эксперим. терапия. - 1982. - № 6. - С. 45 - 47.
16. Александров В. Н. Гуморальный иммунный ответ после травмы различной тяжести // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1983. - №4. – С. 70-72.
17. Александров В. Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества: Учебное пособие.- 2-е изд., перераб и доп. - М.: Военное издательство, 1990.- 271 с.
18. Алексеев Г.И., Аббасов Р.Ю., Першин В.Н. и др. Коррекция нарушений иммунной системы организма людей при острых отравлениях фосфорорганическими соединениями // Патогенез, клиника и профилактика поражений отравляющими веществами вероятного противника. Медицинские средства защиты: Тез. докл. научн. конф. 20-21 мая 1981 г.- Л., ВмедА, 1981.- С. 5-6.
19. Алексеев Г.И., Лихушин П.П., Мошкин Е.А. Профилактика, диагностика и лечение острых отравлений в войсках.- М.: Военное издательство.-1983.- 156 с.
20. Алексеева О.Г., Волкова А.П., Гришина Т.И. и др. Иммунологические механизмы адаптации к профессиональному воздействию бериллия на уровне ПДК для воздуха рабочей зоны // Эргон: Гигиена труда и охрана окружающей среды, токсикол. и профпатол. при работе с бериллием и его соед.:Тез. докл. 4 Всес. симп., Ленинград, 3-5 июня, 1990 [и] Тез. докл. и сообщ. междунар. семин. "Бериллий-92", Санкт-Петербург, 2-4 июня, 1992.-СПб; М., 1992.-С. 67-68.
21. Алехин Е.К., Лазарева Д.Н., Сибиряк С.В., Иммунотропные свойства лекарственных средств. – Уфа, БГМИ, 1993. - 208 с.
22. Алиев Н.А. Влияние алкоголя на функционирование иммунной системы// Сов. медицина.-1991.-№2-С.41-44.
23. Алиев Н.А., Мустафаев. О возможности применения интерферона при лечении алкоголизма // Невропатология.- 1992.- №4.-С. 65-69.
24. Алимов Н.И., Лобур А.Ю., Солодкова Л.Н. Разработка алгоритма комплексного анализа почвы, зараженной люизитом и продуктами его деструкции // Доклады Академии военных наук Поволжское отделение. Серия: Прикладные проблемы уничтожения запасов химического оружия и военной экологии. . – Саратов, «Слово».- 2000.- С. 14-21.
25. Алимов Н.И., Павлов А.Ю., Тараскин К.А., Жиров А.А., Ивашев И.П., Труфанов В.Н., Парфенов Д.А. Разработка метода получения триалкиларсенитов – продуктов утилизации мышьяксодержащих ОВ// Доклады Академии военных наук. Поволжское отделение. Серия: Прикладные проблемы уничтожения запасов химического оружия и военной экологии. – Саратов, «Слово».- 2000.- С. 34-39.
26. Алимов Н.И., Фролов В.Н., Антохин А.М. Обеспечение безопасности граждан и защита окружающей природной среды при возникновении запроектных аварий на объектах уничтожения и хранения химического оружия// Доклады Академии военных наук Поволжское отделение. Серия: Прикладные проблемы уничтожения запасов химического оружия и военной экологии. – Саратов, «Слово».- 2000. - С. 39-43.
27. Алимова М. Т., Маджидов А. В., Арипова Т. У. Влияние пестицидов на антителообразование и иммунорегуляторные показатели лимфоцитов у мышей // Иммунология.-1991.-N 2.-С. 33-34.
28. Ананченко В.Г., Лужников Е.А., Алехин Ю.Д. и др. Влияние фосфорорганических пестицидов на систему иммунитета при острых пероральных отравлениях // Сов. мед.-1987.-№ 3.-С. 106-108.
29. Андронова М. Н., Башкирцев А. С., Орницан Э. Ю., Абламунец К. Я. Показатели минерального обмена и неспецифической резистентности организма на фоне различных рационов питания при воздействии неорганических соединений фтора //Актуал. пробл. питания пром. раб.- Л., 1988.-С. 61-67.

30. Андрюкин А.А. Токсическое действие дихлорэтана на сердечно-сосудистую систему // Клин. мед. – 1979. – Т.57, №1. – С. 43-47.
31. Аничков С.В. Нейрофармакология: (Руководство)/ АМН СССР.-Л.: Медицина, 1982.- 384 с.
32. Арион В.Я. Иммунологически активные факторы тимуса // Медиаторы иммунной системы.- М.: ВИНИТИ, 1981. – (Итоги науки и техники. Сер. Иммунология; Т.9).- С. 232.
33. Арион В.Я., Иванушкин Е.Ф. Принципы иммунокоррегирующей терапии препаратом тимуса Т-активин: А. с. 1673122 СССР, МКИ [5] А 61 К 35/26; Красноярский мед. ин-т. - № 4452382/12; Заявл. 31.05.88; Опубл. 30.98.91, Бюл. №32.
34. Арион В.Я., Караулов Ю.В., Хроменков Ю.И. и др. Изменения некоторых иммунологических и биохимических параметров Т-активина у безмикробных животных // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1987.-Т. 104, № 9. -С. 332-334.
35. Арипова Т. У., Маджидов А. В., Алибекова М. Г., Камалов З.С. Влияние пестицидов на продукцию интерлейкина-2 // Иммунология.-1991.-№ 2.-С. 67-68.
36. Арчаков А.И. Оксигенация биологических мембран. – М.: Медицина, 1993.
37. Аскалонов А. А., Гордиенко С. М., Авдюничева О. Е. и др. Активность клеток-супрессоров при травматическом переломе костей // Иммунология. - 1985, № 1. - С. 62 - 64.
38. Ахматова М.А., Саватеев Н.В., Тиунов Л.А. Исследование биологических мембран при регламентировании содержания химических веществ в окружающей среде.- Гиг. труда и проф. забол. – 1982.- №10.- С. 55-57.
39. Бабанов Г. П. Местные проявления действия нитрила акриловой кислоты на кожу и слизистые оболочки //Врач. дело. –1957.-№5.- с. 511-514.
40. Бабанов Г. П., Ключиков В. Н., Каратаева Н. И., Лилеева З. В. Клиника хронической интоксикации нитрилом акриловой кислоты // Врач. дело. –1957.- №8.- С. 833-836.
41. Бадюгин И.С. Токсикология синтетических ядов.- Казань, 1974. –190 с.
42. Бадюгин И.С., Забродский П.Ф., Поляруш В.П. и др. Военная токсикология, радиология и защита от оружия массового поражения.- М.: Военное издательство, 1992. – 334 с.
43. Бажигитова Б.Б. Динамика иммунологических показателей у больных с частыми повторными заболеваниями респираторного тракта в результате применения имунофана / Б.Б. Бажигитова, А.А. Шортанбаев // Inter. J. Immunorehabilitation. Физиология и патология иммунной системы. - 2003. - Т.5.- №2. – С. 205.
44. Бажин Е.Ф. Атропиновые комы. Л.: Медицина, 1984.
45. Базарный В.В., Ястребов А.П. Действие некоторых иммуномодуляторов на гемопоэз // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1993.-Т. 115, № 2. -С. 53-54.
46. Базарный В.В., Ястребов А.П. К механизму иммунотропного эффекта аспарагиновой кислоты // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1990.-Т. 110, № 11. -С. 468-471.
47. Баранова И.Д., Молотилов В.Ф., Симонова А.В. Иммунологическая эффективность применения иммуномодуляторов в лечении больных фурункулезом // Иммунология.- 1998.- № 4. – С. 63-64.
48. Барштейн Ю. А., Палий Г. К., Персидский Ю.В. и др. Иммунофармакологический анализ длительной интоксикации малыми дозами гербицида симазана //Бюл. экспер. биол. и медицины.-1991.-№ 12.-С. 657-659.
49. Барышников И.И., Смирнова О.И. Влияние холинергических препаратов на миграционную активность лейкоцитов // Фармакол. и токсикол.- 1981.- №1. – С. 85-

87.
50. Бастрянова Л.В. Чухловина М.Л., Нгема Нгама А.Ч. Тимус и резистентность к кишечным инфекциям //Журн. микробиол.-1991.-№ 1.-С. 77-80.
51. Бекеров В.Е., Бравве В.Н., Климина Г.М. Ферменты микросомальных оксидаз и первичный иммунный ответ при интоксикации акрилатами //Механизмы патол. реакций.-Томск, 1988.-№ 5.-С. 160-163.
52. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта: 2-е изд., – Л.: Медицина, 1963. – 235 с.
53. Беликов В.Г. Коррекция тимогеном нарушений физиологических механизмов регуляции иммуногенеза при остром отравлении токсичными химическими веществами // Дисс. … канд. мед. наук. – Саратов, СГМУ. -2001.- 149 с.
54. Белокрылов Г. А., Хавинсон В. Х., Морозов В. Г. Влияние веществ полипептидной природы, выделенных из тимуса и коры головного мозга, на первичный иммунный ответ у мышей к тимусзависимому и тимуснезависимому антигену // Журн. микробиол. и эпидемиол.-1980.-№3.- С. 97-99.
55. Белокрылов Г.А., Молчанов И.В. Левамин и церебролизин как иммуностимуляторы //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1991.-№ 2.-С. 165-166.
56. Белокрылов Г.А., Попов Н.В., Молчанова О.А. и др. Неоднозначность действия пептидов и составляющих их аминокислот на антителообразование и фагоцитарную активность нейтрофилов у мышей //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1991.-№ 1.-С. 53-55.
57. Белокрылов Г.А., Попова О.Я. Лизосомально-катионный тест и тест восстановления НСТ лишь частично отражают степень завершенности фагоцитарного процесса в гранулоцитах человека // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1999.-Т.133, № 1.-С. 75-77.
58. Белокрылов Г.А., Попова О.Я., Сорочинская Е.И. Сходство иммуно-, фагоцитозмодулирующих и антитоксических свойств дипептидов и составляющих их аминокислот //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1999.-Т.127, № 6.-С. 674-676.
59. Бельцкий С. М., Снастина Г. И. Механизм защиты от гнойной инфекции // Иммунология. – 1985. - №2. - с. 14-20.
60. Бережной Р.В. Судебно-медицинская экспертиза отравлений техническими жидкостями. – М.: Медицина, 1977. – С. 110-130.
61. Бертрам Г. Базисная клиническая фармакология. – СПб., «Невский диалект», 2000.- Т. 2. - 672 с.
62. Большаков И.Н. Хороших Л.В., Арион В.Я., Лопухин Ю.М. Влияние тактивина на антителообразующие клетки селезенки // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1991.- № 6.-С. 644-646.
63. Бонитенко Е.Ю. Отравления этиленгликолем и его эфирами. Вопросы патогенеза, антидотной и патогенетической терапии (клинико-экспериментальное исследование) //Автореф. …дисс. канд. мед. наук. – СПб., 1995.- 24 С.
64. Бонитенко Ю.Ю., Куценко С.А. Современные направления фармакотерапии острой алкогольной интоксикации // Токсиколог. вестник – 2004.- №4.- С. 2-11.
65. Борисов В.А. Влияние антигениндуцированного супрессорного фактора селезенки на иммунный ответ к различным антигенам //Физиол. журнал.-Киев, 1990.-Т. 36, № 4.-С. 48-51.
66. Борисова А.М. Алексева А.Б., Сидоров М.З. др. Роль естественной цитотоксичности в иммунопатогенезе рецидивирующей герпетической инфекции и влияние иммуномодуляторов на клинико-иммунологический статус // Иммунология. – 1991.-№6.- С. 60-62.
67. Бравве Г. П., Федюкович Л. В., Клюмина Г. Н. Влияние акрилатов на иммунную

систему в эксперименте и пути коррекции //Матер. Всес. иммунол. съезда, Сочи. 15-17 нояб. 1989 и стенд. сообщ.: Т 1. – М., 1989.- С. 277.

68. Бровкина И.Л., Конопля А.А., Утешев Б.С. Иммунометаболические эффекты взаимодействия жирорастворимых и водорастворимых витаминов при токсических формах анемии // Эксперимент. и клин. фармакол..-2004б. Т.67, №3.-с. 51-55.
69. Бровкина И.Л., Конопля А.А., Утешев Б.С., Рыбников В.Н. Иммуномодулирующее действие пиридоксина, фолата икобаламина при различных формах анемии // Эксперимент. и клин. фармакол.-2004. Т.67, №1.-С. 32-36.
70. Брызгина Т. М. Изменение кооперации Т- и В-лимфоцитов при иммунном ответе на эритроциты барана на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом // Физиол. журн. – Киев.- 1989.-Т 35.-№1.-С. 25-30.
71. Брызгина Т.М., Мартынова Т.В. Изменение бласттрансформации лимфоцитов крови крыс в условиях экспериментального воздействия на печень // Физиолог. журн. – Киев, 1985. – Т. 31, №3. – С. 278-281.
72. Брызгина Т.М., Мартынова Т.В., Алексеева И.И. Роль нарушения процессов кооперации Т- и В-лимфоцитов и активности антигеннеспецифических супрессоров в изменении иммунного ответа на тимусзависимый антиген при токсическом поражении печени // Иммунология и аллергия. – 1990. - №24. – С. 111-113.
73. Брызгина Т.М., Мартынова Т.В., Алексеева И.И. Активность антигеннеспецифических хелперов и супрессоров у кроликов в динамике первичного и вторичного иммунного ответа на эритроциты барана в условиях применения четыреххлористого углерода //Иммунология.-1992.-№ 1.-С. 43-45.
74. Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. Антителообразующая способность клеток селезенки потомства крыс с хроническими поражениями печени // Физиол. журн.-Киев.-1989.-Т 35, №2.- С. 97-99.
75. Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. Интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа у потомства крыс с хроническими поражениями печени // Физиол. журн.-Киев.-1990.-Т 36.-№6.- С. 94-100.
76. Брюхин Г.В., Грачев А.Ю. Интенсивность Fc-зависимого фагоцитоза перитониальных макрофагов и моноцитов крови у потомства крыс с хроническим поражением печени // Физиол. журн. – К., 1991. – Т.37. - №6. – С. 91-94.
77. Брюхин Г.В., Грачев А.Ю. Особенности миграционной активности перитониальных макрофагов и моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы // Физиол. журн. – К., 1993. – Т.39. - №1. – С. 50-53.
78. Брюхин Г.В., Пивель Г.В. АКТГ-продуцирующая функция адреногипофиза и масса надпочечника у потомства самок крыс с хроническим поражением печени // Физиол. журн. – Киев, 1993. – Т.39. - № 2-3. – С. 63-66.
79. Булатова И.В., Хакимова А.М., Цибулькина В.Н. и др. Влияние металлов на состояние иммунитета и развитие атопического дерматита у детей //Казан. мед. ж.-1994.-75, № 1.-С. 52-55.
80. Бурмистров С.О., Арутюнян А.В., Степанов М.Г., Опарина Т.И., Прокопенко В.М. Нарушение активности свободнорадикальных процессов в ткани яичников и мозга крыс при хронической ингаляции толуолом и диоксином // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.132, №9. – С. 257-262.
81. Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. М.: Медицина.- 1985.- 203 С.
82. Бухарин О. В., Васильев Н. В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. – Томск, изд-во Томского ун-та, 1974. – 209 с.

83. Бухарин О. В., Васильев Н. В. Система β-лизина и его роль в клинической и экспериментальной медицине. – Томск, 1977. – 166 с.
84. Бухарин О. В., Сетко Н. П., Желудева Г. Н. Иммунологические сдвиги у экспериментальных животных при воздействии комплекса химических веществ // Гигиена труда.-1985.-№3.-С. 45-46.
85. Бухарин О. В., Сулейманов К. Г., Чернова О. Л., Иванов Ю. Б. Способность микроорганизмов к инактивации бактерицидного действия тромбоцитарного катионного белка (β-лизина) // Бюл. экспер. биол. и мед.-1998.-№7.-С. 66-67.
86. Бухарин О.В., Бичеева Р.Ч. Фотонефелометрический метод определения бета-лизинов в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1970. - №3. – С. 160-162.
87. Бухарин О.В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. – Томск, 1974. – 209 с.
88. Василенко О.А. Характер и механизмы нарушения неспецифической резистентности организма и специфической иммунной защиты при остром отравлении арсенитами // Дисс. … канд. мед. наук. – Саратов, СГМУ. -2004.- 165 с.
89. Быкова А.А., Сединина Н.С. Иммунные и аутоиммунные эффекты этанола // Фармакол. и токсикол.- 2002.- №1. – С. 85-87.
90. Валеева И.Х., Зиганшина Л.Е., Бурнашова З.А., Зиганшин А. У. Влияние димесфосфона и ксидифона на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крыс, длительно получавших преднизолон //Эксперим. и клин. фармакология.- 2002.- Т.65, N 2.-С. 40-43.
91. Варенин С.А., Поделякин Н.А., Кашеварова А.Д. Проблемы медицинской защиты населения при химических катастрофах. – 1992.- №1.- С. 66-71.
92. Варзина Н.В., Филатова Р.И., Тюшнякова Н.В. Изменения нервной и иммунной системы в начальной стадии хромовой интоксикации у рабочих производства хромовых солей //Алма-Ат. гос. мед. ин-т. -Актюбинск, 1990.-С. 149-296.
93. Вахидова Г.А., Мельстер Е.Ш., Васильева Ф.В. Иммуномодулирующая терапия при заболеваниях органов дыхания у больных с наличием в крови хлорорганических соединений (ХОС) // Тез. I Всесоюзного конгресса по болезням органов дыхания.- Киев, 9-12 окт., 1990.- Киев, 1990.- С. 750.
94. Венгеровский А.И., Огородова Л.М., Перевозчикова Т.В. Гепатопротекторы, содержащие фосфолипиды, ослабляют иммунодепрессивный эффект преднизолона при экспериментальном хроническом гепатите // Эксперим. и клин. фармакол.- 2004.-Т.67, № 4.-С. 50-53.
95. Венгеровский А.И., Седых И.М., Саратиков А.С. Эффективность ферментиндуцирующих средств при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном // Эксперим. и клин. фармакол.-1993.-Т.56, № 5.-С. 47-49.
96. Виноградов В.М., Гембицкий Е.В., Мухин Е.А., Фролов С.Ф. Фармакология (общая, частная и основы клинической) / Под ред. В.М.Виноградова.- 2 изд., доп. и перераб.– Л.:Изд-во ВМА, 1986– 515 с.
97. Виноградов В.М., Гембицкий Е.В., Мухин Е.А., Фролов С.Ф. Фармакология средств с преимущественным действием на обмен веществ и противомикробных препаратов. – Л.:Изд-во ВМА, 1986– 404 с.
98. Владимиров В.А. Сильнодействующие ядовитые вещества и защита от них.- М., Военное издательство.- 1989. - 176 с.
99. Вольский Н.Н., Цырлова И.Б., Козлов В.А. Селективное действие зиксорина , индуктора цитохрома Р-450, на гуморальный иммунный ответ и реакцию гиперчувствительности замедленного типа //Иммунология.-1985.-N 3.-С. 47-49.
100. Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. Клетки костного мозга и периферической крови (структура, биохимия, функция).- М. : Медицина, 1985. –

284 с.
101. Галактионов В. Г. Графические модели в иммунологии. - М. : Медицина, 1986. – 240 с.
102. Галактионов С. Г., Михнева Л.М., Николайчик В.В. К вопросу о неспецифичности действий «средних молекул» на аппарат клеточного иммунитета // Химия и биолог. иммунорегуляторов. - Рига. - 1985. - с. 253 - 264.
103. Галактионов С. Г., Цейтин В. М., Леонова В. И. и др. Пептиды группы средних молекул // Биоорганич. химия. 1984, № 1. - С. 5 - 17.
104. Гамаюрова В.С. Мышьяк в экологии и биологии. - М., Наука, 1993. – 208 с.
105. Гембицкий Е.В., Бонитенко Ю.Ю. О механизме токсического действия дихлорэтана //Военно-медицинский журнал.-1983.-N 9.- С. 17-20.
106. Гембицкий Е.В., Кожемякин Л.А., Королюк А.М., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Оценка иммунного статуса организма в лечебных учреждениях Советской Армии и Военно-морского Флота: Метод. пособ.- 1987.- М.: Изд-во ЦВМУ МО СССР. – С. 24-25.
107. Генес В. С. Таблицы достоверных различий между группами наблюдений по качественным показателям. – М.: Медицина, 1964. – 80 с.
108. Генес В. С., Шмутер Л. М., Буркина-Вовк З. И. Об едином математическом подходе к выявлению хронического действия малых концентраций промышленных ядов // Гигиена труда.-1981.-№1.-С. 30-31.
109. Германчук В.Г. Нарушения регуляции физиологических механизмов иммуногенеза при остром отравлении нитрилами// Дисс. … канд. мед. наук. – Саратов, СВИРХБЗ. -2000.- 121 с.
110. Гигиенические критерии окружающей среды. Вып. 62. 1,2-дихлорэтан.- Женева, ВОЗ.-1990.-С. 58-59.
111. Голиков С.Н. Профилактика и терапия отравлений фосфорорганическими инсектицидами. –М., 1968. – 168 с.
112. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия / АМН СССР. -Л.: Медицина, 1986. –280 с.
113. Гольдберг Д. И., Гольдберг Е. Д. Справочник по гематологии. - Томск, изд-во Томского ун-та. - 1980. - 266 с.
114. Гольдберг Е. Д., Штернберг И. Б., Михайлова Т. Н. Состояние лимфоидной ткани при введении рубомицина С //Пат. физиол. и эксперим. терапия.–1972.-№2.- С. 67-68.
115. Гонтова И.А., Громыхина Н.Ю., Козлов В.А. Механизмы влияния ацетилхолина на интенсивность гуморального иммунного ответа // Иммунология. .-1989.- N 4.-С. 52-55.
116. Гордиенко С. М. Нерадиометрические методы оценки естественной цитотоксичности на эритроцитарные клетки-мишени // Иммунология.-1984.-№1.-С. 31-36.
117. Гордиенко С.М. Приемлемый для клинической практики метод оценки активности естественных и антителозависимых киллерных клеток //Лаб. дело.- 1983.-№ 9.-С. 45-48.
118. Гордиенко С.М., Авдюничева О.Е., Козлова В.А. Эффекторная и регуляторная активность мононклеарных фагоцитов и естественных киллерных клеток при травматическом переломе костей // Иммунология. - 1987. - № 2. - С. 78 - 81.
119. Горизонтов П. Д. Система крови как основа резистентности и адаптации организма // Физиол. журн. – Киев.- 1981.-Т 27.-№3.-С. 317-321.
120. Горизонтов П. Д. Стресс. Система крови в механизме гомеостаза. Стресс и болезни. / В кн.: Гомеостаз. – М.:Медицина, 1981.- С. 538-573.

121. Горизонтов П. Д., Протасова Т. Н. Детоксикация как один из механизмов гомеостаза и резистентности // Гомеостаз. - М.: Медицина, 1981. - С. 234 - 258.
122. Горшенин А.В., Перевозчикова Н.В., Лоскутова Н.Д. Исследование состояния иммунной системы при воздействии токсичных факторов окружающей среды // Экология, здоровье, человек: Тез. докл. Всероссийской научной конференции, посвященной 70-летию военного полигона г. Шиханы.- Саратов, «Слово».- 1998.- С. 56.
123. Гребенюк А.Н., Антушевич А.Е., Беженарь В.Ф. и др. Нейтрофил и экстремальные воздействия/ Под ред. А.Н. Гребенюка и В.Г. Бовтюшко. –СПб., 1998.- 215 с.
124. Гребенюк А.Н., Романенко О.И. Общие механизмы иммуноцитологических реакций при химических воздействиях // Сб. материалов XIII научн. докл. молодых ученых и специалистов военно-медицинской академии.- СПб., 1996.- С. 21-22.
125. Громыхина Н.Ю., Маркова Е.В., Любимов Г.Ю. и др. Продукция интерлейкина-1 и простагландина E_2 макрофагами мышей в условиях индукции Р-448-зависимой монооксигеназной активности //Иммунология.-1992.-№ 1.-С. 37-40.
126. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978.- 296 с.
127. Гудзь О.В. Сравнительное изучение влияния эфиров этиленгликоля на морфологический состав и функциональное состояние клеток периферической крови белых крыс // Фармакол. и токсикол.-1988.-N 23.-С. 110-115.
128. Гурин В.Н. Роль центральных холинергичесикх структур в механизме стимуляции гипофизарно-адренокортикальной системы фармакологическими средствами // Фармакологическая регуляция жизнедеятельности организма через холинергические системы.- Л.: Лен. сан.-гиг. мед. ин-т.- 1970. – С. 174-175.
129. Гущин Н.В., Хайдарова Д.С., Кугушева Л.И. и др. Активность ацетилхолинэстеразы лимфоцитов крыс при интоксикации пестицидами //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1991.-Т. 111, № 2.-С. 144-146.
130. Гюллинг Э.В., Гоц Т.Ю., Гремяков В.А. Модуляция реактивности базафилов низкомолекулярными тимическими препаратами // Докл. АН УССР.-1991.-№ 6.-С. 174-175.
131. Давыдов В.В. Флюорометрическое определение неконъюгированных 11-оксикортикостероидов в биологических средах организма // Патофизиология экстремальных состояний. Труды ВМА им. С.М. Кирова, Т. 189.- Л.: ВмедА, 1970.- С. – 85-86.
132. Давыдова В.И. Мышьяк и его соединения. – В кн.: Вредные химические вещества. Неорганические соединения V –VIII групп: Справ. изд./ А.Л. Бандман, Н.В. Волкова, Т.Д. Грекова и др.; Под ред. В.А. Филова и др. – Л.: Химия.- 1989.- С. 82-102.
133. Давыдова Е.В., Алексеев С.М., Бонитенко Е.Ю., Гребенюк А.Н., Романенко О.А., Сидоров Д.А. Состояние нейтрофилов периферической крови в условиях острых воздействий токсикантов различных групп // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты – СПб.: ООО «Изд. Фолиант», 2004.- С. 74-75.
134. Давыдова Е.В., Бонитенко Е.Ю., Романенко О.А., Шилов В.В., Гребенюк А.Н. Лейкоцитарная защита при острых отравлениях липофильными ксенобиотиками // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты – СПб.: ООО «Изд. Фолиант», 2004.- С. 75-77.
135. Давыдова Е.В., Романенко О.И., Шилов В.В., Гребенюк А.Н. Состояние лейкоцитарной защиты при экспериментальных отравлениях карбофосом и

дихлорэтаном // Актуальные проблемы теоретической и прикладной токсикологии: Тез. Докл. 1 Всероссийской конференции токсикологов.- СПб, 1995.- С. 44.
136. Давыдова Т.В., Фомина В.Г. Адоптивная иммунотерапия экспериментального алкоголизма у мышей C57B1/6 спленоцитами, экстракорпорально стимулированными реафероном // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.132, №9. – С. 294-296.
137. Денисенко П.П. , Чередниченко Р.П. Взаимное влияние нервных и иммунных процессов // В кн.: Фармакологическая регуляция жизнедеятельности через хлинергические системы: Тезисы докладов к конференции 23-25 сентября 1970 г. – Л., Ленинградский сан.-гиг. мед. институт.-1970. – С. 25.
138. Денисенко П.П. Роль холинореактивных систем в регуляторных процессах.- М: Медицина.-1980.-С. 296.
139. Денисенко П.П., Чередниченко Р.П. Влияние синаптотропных препаратов на специфический и неспецифический гуморальный иммунитет // Фармакол. и токсикол.- 1974.- №1. – С. 66-70.
140. Дешевой Ю. Б. Влияние ацетилхолина на миграцию зрелых эозинофилов из костного мозга в циркулирующую кровь // Пат. физиол. и эксперим. терапия.- 1985.- №. 5.-С. 48-50.
141. Дешевой Ю.Б. Горизонтов П.Д. Влияние препаратов, действующих преимущественно в области периферических М-холинореактивных систем на эозинофилы костного мозга // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1982.-Т. 94, № 5.-С. 61-63.
142. Дешевой Ю.Б. Ранняя реакция кроветворных органов на стресс-воздействие в зависимости от состояния периферических М-холинорецептивных систем // Пат. Физиол. и эксперим. терапия.- 1982. -№3.- С. 25-27
143. Дешевой Ю.Б. Реакция эзинофилов костного мозга у интактных и адреналэктомированных крыс на введение препаратов, действующих преимущественно в области периферических М-холинорецептров // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1984.- № 10.-С. 512. (Реф. рукописи, деп. в ВИНИТИ 23.05.1984 г., № 3344-84 Деп).
144. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты / Пер. с англ. - М.: Мир, 1982.-Т 2.- 806 с.
145. Диноева С.К. Динамика изменений иммунной структуры лимфатических фолликулов селезенки при интоксикации пестицидами. //Гигиена и санитария.- 1974.-№ 3.-С. 85-87.
146. Долинская С. И., Лурье Л. М., Таги-заде Р. К. Влияние пестицидов на миграционную активность макрофагов и некоторые показатели метаболизма //Гигиена и сан.-1989.-№ 7.-С. 76-77.
147. Долишний В.Н. Факторы, способствующие осложненному течению раневого процесса // Докл. Поволжского отделения АВН: Серия "Военное здравоохранение и военно-медицинское обоазование. – 1999.- № 2.- С. 39-45.
148. Дорошевич А.Л. Влияние фосфорорганических соединений на содержание некоторых биогенных аминов: Автореф. дис... канд. мед. наук.- Минск.-1971.-С. 23.
149. Дыгай А.М., Богдашин И.В., Шерстобоев Е.Ю. и др. Роль тимуса в регуляции продукции интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли клетками костного мозга мышей при стресс-реакции // Иммунология.-1992.-№ 3.-С. 36-38.
150. Дьячук И. А. Состояние иммунобиологической реактивности организма работников индейководческих птицефабрик //Гигиена. труда.-1979.-№ 2.-С. 53-55.
151. Дьячук И. А. Состояние иммунобиологической реактивности организма работников индейководческих птицефабрик //Гигиена. труда.-1979.-№ 2.-С. 53-55.
152. Евсеев В. А., Магаева С. В. Стресс в механизмах развития вторичных

иммунодефицитных состояний // Вестн. АМН СССР.-1985.-№8.-С. 18-23.
153. Евсеев В.А., Фомина В.Г., Давыдова Т.В. и др. Иммунодепрессивное, противовоспалительное действие этанола и развитие повышенной чувствительности к нему лейкоцитов крови и тучных клеток крыс // Иммунология. – 1983. - №2. – С. 60-63.
154. Елизарова Н.Л., Арион В.Я., Зимина И.В. Опиоиды в составе тактивина: β-эндорфин // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 204.
155. Елькин А.Н., Елизаров Д.П., Даванков В.А., Катаев С.С. и др. Эффективность гемосорбции на синтетических сорбентах при отравлении 1,2-дихлорэтаном // Токсикол. вестник.- 2004.- №2. – С. 6-8.
156. Ершов Ф.И. Иммуномодуляторы - новое поколение противовирусных средств // Эксперим. и клин. фармакол. - 1995. - Т. 58, № 2. - С. 74 - 78.
157. Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизм токсического действия неорганических соединений.- М.: Медицина, 1989.- 272 с.
158. Ефремов А. М. Исследование биотрансформации нитрила акриловой кислоты в организме животных //Здравоохр. Белоруссии.-1976.-№7.-С. 85-86.
159. Ефремов А. М. Исследование свободных радикалов крови, мозга, печени и селезенки белых крыс, подвергавшихся хроническому отравлению нитрилом акриловой кислоты //Здравоохр. Белоруссии.-1976.-№6.-С. 74-78.
160. Жамсаранова С. Д., Лебедева С. Н., Ляшенко В.А. Оценка функциональной активности макрофагов при воздействии карбофоса и 2,4-Д //Сб. науч. тр. ВНИИ гигиены и токсикол. пестицидов, полимеров и пласт. масс.-1988.-№18.-С. 143-147.
161. Жамсаранова С.Д., Миронова Э.С., Сергеева З.Д. и др. Использование показателей иммунной системы организма животных при оценке пороговых доз пестицидов //Гигиена и санитария.-1990.-№ 2.-С. 75-76.
162. Жданов В.В., Лукьянова Т.А., Кириенкова Е.В. Механизмы кроветворения у бестимусных крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Т.133, №5. – С. 522-524.
163. Жминько П.Г. Токсикодинамика и особенности токсического действия нового пестицида циклофоса //Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химических вредных факторов: Тез. докл. I Всес. съезда токсикологов.-Ростов н/Д.,1986.-С. 296-297.
164. Жубантурлиева А.Б. Имунофан в комплексном лечении больных с хроническим обструктивным заболеванем легких / Жубантурлиева А.Б., Шортанбаев А.А., Туремуратова Ш.К., Курбанбаева Н.К // Internatinal J. on Immunorehabilitation. Физиология и патология иммунной системы. - 2003. - Т.5. - №2. - С. 218.
165. Жук Е.А., Галенюк В.А. Тимоген в лечении сахарного диабета I типа// Тер. Архив.- 1996.-Т.68, №10.- С.12-14.
166. Жуков В.Е., Клаучек В.В., Шкодич П.Е. Токсикологическая характеристика комбинированного действия иприта и люизита // Токсикол. вестник.-2002.-№5.- С. 31-35.
167. Забродский П.Ф. Иммунотропные свойства ацетилхолинэстеразных веществ // Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химических вредных факторов. Тез. докл. I Всес. съезда токсикологов. - Ростов н/Д, 1986.-С. 342-343.
168. Забродский П.Ф. Влияние армина на факторы неспецифической резистентности организма и первичный гуморальный ответ //Фармакол. и токсикол. – 1987.- Т 49.- №2.-С. 57-60.
169. Забродский П.Ф. Иммунотропные свойства феназепама //Фармакол. и токсикол.- 1991.-№ 2.-С.59-61.
170. Забродский П.Ф. Стимуляция антителогенеза, К-клеток и функции макрофагов

комбинированным применением активаторов циклических нуклеотидов и бензодиазепиновых рецепторов // Иммунология.-1991.-№ 5.-С. 40-42.

171. Забродский П.Ф. Фармакологическая регуляция активности нейтрофилов холинотропными препаратами, барбитуратами и феназепамом // Эксперим. и клин. фармакология.-1992.-Т. 55, № 6.-С. 31-33.
172. Забродский П. Ф. Механизмы иммунотропных эффектов фосфорорганических соединений // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1993. - Т 116, № 8. - С. 181 -183.
173. Забродский П.Ф. Влияние острого воздействия ацетонитрилом и нагревающего микроклимата на неспецифическую и иммунологическую резистентность организма //Мед. труда и пром. экол. – 1994.-№5-6.-С. 12-14.
174. Забродский П.Ф. Влияние антидотных препаратов на иммунные реакции при острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфатом // Эксперим. и клин. фармакология.-1995.-№ 2.-С. 49-51.
175. Забродский П.Ф. Изменение антиинфекционной неспецифической резистентности организма под влиянием холинергической стимуляции // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1995. - Т. 119, № 8. - С. 164 - 167.
176. Забродский П.Ф. Фармакологическая коррекция нарушений системы иммунитета при острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфатом // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1996. - Т. 121, №4. - С. 441 - 443.
177. Забродский П.Ф. Иммунотропные свойства ядов и лекарственных средств.- Саратов : Изд. СГМУ, 1998.-213 с.
178. Забродский П.Ф. Иммунотоксические эффекты при остром отравлении метанолом // Токсикол. вестник.-1999.- №2.- С. 8-11.
179. Забродский П.Ф. Влияние тимогена на постинтоксикационное иммунодефицитное состояние, вызванное острым отравлением ацетонитрилом // Эксперим. и клин. фармакол. – 1999.-Т 62, №3.-С. 48-49.
180. Забродский П.Ф. Влияние ксенобиотиков на иммунный гомеостаз. – В кн.: Общая токсикология / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова.- М.: Медицина, 2002. – С. 352-384.
181. Забродский П.Ф., Германчук В.Г. Оценка роли кортикостерона в реализации иммуносупрессивных эффектов при остром отравлении токсичными химическими веществами //Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000.-Т.129, №5.-С. 552-555.
182. Забродский П.Ф., Германчук В.Г. Иммунотоксические эффекты при остром отравлении этиленгликолем // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000.-Т. 130, №10.-С. 415-417.
183. Забродский П.Ф., Германчук В.Г. Влияние этанола на изменение иммунотоксичности метанола // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001.-Т 64.-№5.-С. 40-42.
184. Забродский П.Ф., Германчук В.Г. Иммунный гомеостаз при антидотной терапии острых отравлений токсичными химическим веществами// Токсикол. вестник.-2002, №1.- С. 8-11.
185. Забродский П.Ф., Германчук В.Г. Сравнительная оценка влияния этиленгликоля, метанола, этанола и их метаболитов на активность естественных клеток-киллеров // Токсикол. вестник.- 2004.- №4.- С. 10-13.
186. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Киричук В.Ф., Нодель М.Л., Аредаков А.Н. Антихолинэстеразный механизм как фактор иммунотоксичности различных химических соединений //Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2003.-Т. 136.-№8.-С. 202-204.
187. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Ковалев А.Ю., Кадушкин А.М. Нарушение функции субпопуляций Т-лимфоцитов при подостром отравлении токсичными

химикатами // Российский хим. журн.- 2007.- № 3.- С. 25–28.
188. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Мандыч В.Г., Кадушкин А.М. Роль Th1- и Th2-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов в супрессии иммунных реакций при подостром отравлении антихолинэстеразными токсикантами // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2007.-Т. 144, №7.-С. 62-64.
189. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Нодель М.Л., Василенко О.А., Аредаков А.Н. Влияние имунофана на показатели системы иммунитета и перекисного окисления липидов после острых отравлений токсичными химическими веществами // Эксперим. и клин. фармакология.-2004. – Т. 67, № 5.-С. 28-30.
190. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Трошкин Н.М. Иммуностимуляторы. – Саратов, «Аквариус». – 2001.- 109 с.
191. Забродский П.Ф., Кадушкин А.М. Относительное увеличение функции Th2-лимфоцитов при интоксикации фосфорорганическими соединениями как фактор риска развития респираторных аллергических реакций // Аллергология и иммунология.- 2007.- Т. 8, № 1.- С. 156.
192. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. Изменение показателей неспецифической резистентности организма, гуморальных и клеточных иммунных реакций после острого отравления ацетонитрилом // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1998.-Т. 125, №5.-С. 548-550.
193. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Германчук В.Г. Роль антихолинэстеразного механизма в супрессии антителообразования при острой интоксикации фосфорорганическими соединениями // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001.-Т 131, №5.-С. 551-553.
194. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Германчук В.Г., Беликов В.Г. Механизмы иммунотропных эффектов акрилонитрила //Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000.-Т. 129, №5.-С. 547-549.
195. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Германчук В.Г., Карпенко Н.И. Влияние тетрахлорметана на показатели системы имунитета // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004.-Т. 137, №1.-С. 56-58.
196. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Грызунов А.В. Изменение неспецифической и иммунологической резистентности организма при остром отравлении дихлорэтаном // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1997.-Т. 123, №1.-С. 51-53.
197. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Иванов Д.Ю., Мандыч В.Г. Нарушения иммунного гомеостаза и антиоксидантной системы при сочетанном действии 1,2-дихлорэтана и тяжелой механической травмы и их коррекция ацетилцистеином и полиоксидонием // Эксперим. и клин. фармакология. – 2007. – Т. 70, № 2. – С. 56-58.
198. Забродский П.Ф., Лим В.Г. Влияние трихлорэтилена на показатели системы иммунитета // Вест. новых мед. технологий. - 2005.- Т.XII, № 1.- С. 38.
199. Забродский П.Ф., Лим В.Г. Оценка эффективности различных иммуностимуляторов при постинтоксикационных иммунодефицитах, вызванных острыми отравлениями спиртами и хлорированными углеводородами // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т. 6, № 2. – С. 201.
200. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Германчук В.Г. Влияние этанола и 4-метилпиразола на изменение иммунотоксичности этиленгликоля // Эксперим. и клин. фармакология. – 2005. – Т. 68, № 1. – С. 53-55.
201. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Мальцева Г.М., Молотков А.О. Иммунотропные свойства холинергических веществ / Под ред. П.Ф. Забродского. – Саратов: Изд. «Научная книга», 2005. – 251 с.
202. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Киричук В.Ф., Свистунов А.А. Влияние острого

отравления хлорированными углеводородами на фагоцитарно-метаболическую активность нейтрофилов, показатели системы иммунитета и ПОЛ // Токсикол. вестник. – 2005. - № 6. – С. 2-6.
203. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Трошкин Н.М. Сравнительная оценка влияния острого отравления хлорированными углеводородами на неспецифическую резистентность организма // Вест. новых мед. технологий. - 2005.- Т. XII, № 1.- С. 38-39.
204. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Трошкин Н.М. Влияние дихлорэтана на показатели системы иммунитета и перекисного окисления липидов // Вест. новых мед. технологий. - 2005.- Т. XII, № 2.- С. 15-16.
205. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Трошкин Н.М. Влияние имунофана на показатели системы иммунитета и перекисного окисления липидов после острых отравлений хлорированными углеводородами // Вест. новых мед. технологий. - 2005.- Т.XII, № 3-4. – С. 46-47.
206. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Трошкин Н.М. Влияние дихлорэтана и его метаболитов на кооперацию Т- и В-лимфоцитов и активность естественных клеток киллеров in vitro // Токсикол. вестник. – 2005. - № 4. – С. 30-33.
207. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Трошкин Н.М. Влияние фолината кальция на изменение иммунотоксичности метанола // Эксперим. и клин. фармакология.- 2005.- Том 68, №4. – С. 46-48.
208. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Трошкин Н.М., Сидельникова Н.М. Влияние аминостигмина на показатели НРО и системы иммунитета при остром отравлении 3-хинуклидилбензилатом (BZ) // Эксперим. и клин. фармакология. – 2005. – Т. 68, № 6 – С. 56-59.
209. Забродский П.Ф., Линючев М.Н. Оценка защиты фармакологичес-кими средствами, индуцирующими монооксигеназные энзимы от пестицидов по показателям летальности // Эксперим. и клин. фармакология. – 1993. – Т. 56, № 5 – С. 45-47.
210. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Германчук В.Г. Иммуностимулирующие свойства полиоксидония при остром отравлении токсичными химикатами ипритом и люизитом // Иммунология.- 2006.- №4.- С.234-236.
211. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Германчук В.Г. Иммуностимулирующие свойства полиоксидония при остром отравлении антихолинэстеразными токсичными химикатами // Эксперим. и клин. фармакология. – 2006. – Т. 69, № 6 – С. 37-39.
212. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Германчук В.Г. Сравнительная оценка влияния острого отравления токсичными химикатами на параметры неспецифической резистентности организма и системы иммунитета // Токсикол. вестник.– 2006. - № 6. – С. 6-9.
213. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Германчук В.Г. Ингибирование цитохрома Р-450 2-диэтилдиаминоэтил-2,2-дифенилпропилацетатом (SKF-525A) снижает иммунотоксичность хлорированных углеводородов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2006.- Т. 142, №9. –С. 294-296.
214. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Иванов Д.Ю., Германчук В.Г. Сочетанное действие дихлорэтана и тяжелой механической травмы на показатели системы иммунитета // Вест. новых мед. технологий - 2006.- Т.XIII, № 4.-С. 99-100.
215. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Иванов Д.Ю., Германчук В.Г. Сочетанное действие хлорированных углеводородов в условиях высокой температуры воздуха на систему иммунитета и перекисное окисление липидов // Токсикол. вестник. – 2007. - № 1. – С. 14-17.

216. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Кадушкин А.М. Редукция функции Th1- и Th2-лимфоцитов при остром отравлении фосфорорганическим соединением диметилдихлорвинидфосфатом // Вестник новых мед. технологий. 2007.- Т. XIV, № 1.- С. 201–202.
217. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Киричук В.Ф, Иванов Д.Ю. Нарушения иммунного гомеостаза и антиоксидантной системы при сочетанном действии 1,2-дихлорэтана и тяжелой механической травмы и их коррекция ацетилцистеином и полиоксидонием // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 2. – С. 56-58.
218. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Киричук В.Ф., Серов В.В. Влияние острого отравления метанолом на перекисное окисление липидов и концентрацию в крови кортикостерона // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. XIV, №1. – С. 81.
219. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Мысник Л.В. Иммунотоксические свойства нитрила акриловой кислоты и их связь с перекисным окислением липидов // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. XIV, №4. – С. 19-20.
220. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., Серов В.В., Киричук В.Ф. Супрессия иммунных реакций, связанных с функцией Th1- и Th2-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов, при остром отравлении метанолом // Вест. новых мед. технологий. – 2006. – Т. XIII, №4. – С. 173.
221. Забродский П.Ф., Мысник Л.В. Восстановление функции Th1- и Th2-лимфоцитов полиоксидонием при интоксикации нитрилом акриловой кислоты // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т. 8, № 3. – С. 328.
222. Забродский П.Ф., Мышкина А.К. Влияние холинергической стимуляции на формирование гиперчувствительности замедленного типа // Фармакол. и токсикол.-1989.-№ 6.-С. 46-48
223. Забродский П.Ф., Ромащенко С.А. Влияние тиосульфата натрия на неспецифическую резистентность организма и иммунные реакции при остром отравлении акрилонитрилом //Эксперим. и клин. фармакол. – 1998.-Т. 61, №5.-С. 56-58.
224. Забродский П.Ф., Саватеев Н.В. Иммунотропная активность химических веществ как возможная причина заболеваемости в экологически неблагополучных регионах // Воен.-мед. журн.- 1994.- №6.- С. 28-34.
225. Забродский П.Ф., Шилохвостов Н.Г., Кажекин А.А. Влияние острой интоксикации фосфорорганическими инсектицидами на иммунный гомеостаз и его коррекция / Воен.-мед. факультет при СГМУ, Саратов, 1994. – 9 с. – Деп. в ВИНИТИ 20.04.94, №958-В94.
226. Западнюк И.П., Западнюк В. И., Захария Е.А., Западнюк Б. Д. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – 3-е изд., переработ. и доп. - Киев, Выща школа.- 1980. – 383 с.
227. Зарубина И.В., Миронова О.П. Антиоксидантная защита головного мозга при острой гипоксии беметилом // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.133, №2. – С. 165-167.
228. Земсков В.М. Неспецифические иммуностимуляторы //Успехи современной биологии.-1991.-Т.111, № 5.-С. 707-721.
229. Зимин Ю. И., Ляхов В. Ф. Эффект кооперации в реакции зависимой от антител клеточной цитотоксичности // Иммунология.-1985.-№1.- с. 27-30.
230. Золотникова Г. П. О нарушении иммунологической реактивности организма под воздействием пестицидов в условиях теплиц //Гигиена труда.-1980.-№ 3.-С. 38-40.
231. Золотникова Г.П. К вопросу о ранней диагностике и профилактике

профпатологии пестицидной интоксикации у тепличниц //Гиг. труда и проф. заболеваний.-1978.-№12.-С. 14-18.
232. Золотухин А.Н., Пронин А.Т. Профилактика поражений личного состава авиации Вооруженных Сил СССР ядовитыми техническими жидкостями.- М.: Воениздат, 1982.- 88 с.
233. Зотова Л. В. О токсическом действии акрилонитрила на организм экспериментальных животных при его поступлении через кожу // Гигиена и санитария. –1976.- №10.- С. 103-105.
234. Иванов В. В. Окислительные превращения акрилонитрила как основа его токсического действия //Фармакол. и токсикол. – 1987.- Т 43, №3.-С. 383-384.
235. Иванов В.В. Изменение численности и качественного состояния лимфоцитов при хроническом радиационно-химическом поражении крыс //Гигиена и санитария.-1986.-N 3.-С. 37-40.
236. Иванова А. С. Характер вовлечения эндокринной системы в стресс ответе на отравления нейротропными средствами //Токсикол. вестник.-1998.-№4.- С. 16-19.
237. Ивашина С. А. Гуморальные и клеточные факторы неспецифического иммунитета у лиц, контактирующих с цинком // Гигиена и санит. –1980.-№6.-С. 82-83.
238. Идова Г.В., Чейдо М.А. Предотвращение иммуносупрессии у стрессированных мышей изменением активности нейромедиаторных систем // Бюл. экспер. биол. и мед.- 1996.- Т.122, №7.-С.22-24.
239. Идова В.Г., Чейдо М.А., Девойно Л.В. Иммунная реакция у мышей при психоэмоциональном напряжении в условиях снижения синтеза серотонина в мозге // Сб. докл. Акад. наук, 2004. - Т. 398, №1. – С. 132-134.
240. Измеров Н. Ф., Саноцкий И. В., Сидоров К. К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии.-М: Медицина, 1977.-239 с.
241. Ильичевич Н.В., Алексеева И.Н., Брызгина Т.М., Галенко Т.И. Иммунологическая реактивность организма в условиях экспериментальных воздействий на печень // Иммунология. – 1984. - №5. – С. 65-67.
242. Имантаева Г.М. Иммунореабилитационная активность тактивина в комплексном лечении больных инфарктом миокарда // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 246-247.
243. Каган Ф.С. Токсикология фосфорорганических пестицидов.-М:. Медицина, 1977.-296.
244. Каган Ю.С., Кокшарева Н.В., Овсянникова Л.М., Самусенко Н.И. Использование индукции цитохрома Р-450 как один из новых принципов терапии отравлений фосфорорганическими инсектицидами //Вестн. АМН СССР.-1980.-№ 8.-С. 55-57.
245. Казакова В. В. Влияние стирола на некоторые показатели естественного иммунитета у лабораторных животных //Гигиена. труда.-1971.-№ 2.-С. 53-54.
246. Калинина Н.И. О Конвенции по запрещению химического оружия. Что о ней надо знать.- М., ЗАО «Агенство Ракурс», 2000. - 35 с.
247. Калинина Н.И. Химическое разоружение России и его нормативно-правовое обеспечение. М., ЗАО «Агенство Ракурс», 2000. – 52 с.
248. Калинкович А.Г., Борисова Л.С., Инжеваткина С.М. и др. Влияние веществ, увеличивающих внутриклеточное содержание цГМФ, на функциональную активность В-клеток у мышей // Иммунология.-1988.-№ 4.-С. 33-36.
249. Караулов А.В. Клинико-иммунологическая эффективность применения имунофана при оппортунистических инфекциях // Лечащий врач. – 2000. - №5-6. - С. 28-29.
250. Караулов А.В. Молекулярно-биологическое обоснование применения

имунофана в клинической практике // Лечащий врач. – 2000. – № 4. - С.46-47.
251. Караулов А.В. Ликов В.Ф., Евстигнеева И.В., Кокушков Д.В. Оценка различных методов иммуномониторинга при проведении иммунокоррекции // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 136-137.
252. Каулиньш У.Я. Лизоцим: (Обзор). - Рига, 1982. - 51 с.
253. Кащенович Л.А., Разибакиевич Р.М., Федорина Л.А. Т- и В-система иммунитета у больных интоксикацией пестицидами // Гиг. труда и проф. заболеваний.-1981.-№ 4.-С. 17-19.
254. Кемилева З. Вилочковая железа: Пер. с болг.- М.: Медицина,1984. – 256 с.
255. Кирилина Е.А., Михайлова А.А., Малахов А.А. Гурьянов С.А., Ефремов М.А. Механизм иммунокоррегирующего действия миелопида // Иммунология. -1998. - № 4.- С. 27 - 29.
256. Кирилличева Г.Б., Батурина И.Г., Митькин В.В. и др. Особенности влияния Т-активина на активность 5- нуклеотидазы макрофагов и уровень кортизола крови в зависисмости от времени суток // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1990.-Т. 110, № 11.-С. 468-471.
257. Кириллова Е.Н., Муксинова К.Н., Смирнов Д.Г., Сокольников М.Э. Эффективность миелопида в модификации иммунных нарушений, индуцированных длительным действием радиации // Иммунология. - 1991. - № 6. – С. 35 - 36.
258. Климова Д.М., Кузнецова К.К., Дмитриева Р.А. и др. Влияние хрома на сопротивляемость организма животных //Клин. и гигиен. аспекты влияния на организм хрома и др. хим. веществ. Ч. 1 /Алма-ат. гос. мед ин-т.-Актюбинск,1990.-С. 109-110.
259. Клинцевич А.Д., Баулин С.И., Головков В.Ф., Рембовский В.Р., Смирнова Л.А., Трошкин Н.М. Сравнительный анализ изменений белкового обмена, перекисного окисления липидов и системы гемостаза при действии полихлорированных дибензо-n-диоксинов и радиации // Докл. АН.- 1994.- Т.335, №3.- С. 378-381.
260. Ковалев И.Е. Роль иммунологических механизмов в системе поддержания химического гомеостаза //Химия и биол. иммунорегуляторов.-Рига, 1985.-С. 188-205.
261. Ковалев И.Е., Борисова А.Н. Влияние индукторов микросомальных оксидаз со смешанной функцией на иммунный ответ мышей, вызываемый гетерологичными эритроцитами // Журн. микробиол.-1981.-№ 4.-С. 42-45.
262. Ковалев И.Е., Полевая О.Ю. Антитела к физиологически активным соединениям.-М., 1981.-С. 126.
263. Ковалев И.Е., Рубцова Е.Р., Подымова Н.Г. и др. Исследование иммунофармакологической активности перфторбутиламина //Фармакол. и токсикол.-1986.-№ 2.-С. 28-31.
264. Ковалев И.Е., Шипулина Н.В. Реципрокное влияние циклофосфана на цитохром Р-450 печени и систему иммунитета // Фармакол. и токсикол.-1983.-№ 4.-С. 71-75.
265. Ковалев И.Е., Шипулина Н.В., Томилина Н.Ю. Индукция цитохрома Р-450 и последующая индукция иммунного ответа у крыс при хроническом введении ксенобиотиков // Фармакол. и токсикол.-1990.-Т. 53.-№ 1.-С. 54-57.
266. Ковальская Н.И., Арион В.Я., Бреусов Ю.Н., Линдер Р.П. Влияние длительного введения Т-активина на структуру тимуса // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1984.-Т. 97, № 1. -С. 101-102.
267. Ковтун С.Д., Кокшарева Н.В. Электрофизиологический анализ действия ряда антихолинэстеразных веществ на функциональное состояние периферического нерва и нервно-мышечную передачу теплокровных животных // Физиол. журн. - 1980. - Т. 26, № 4. - С. 26 - 29.

268. Коготкова О. И., Буравцева Н. П., Еременко Е. И., Ефременко В. И., Аксенова Л. Ю. Сочетанное применение в эксперименте живой противосибиреязвенной вакцины СТИ с ликопидом // Иммунология. -2004. - № 2.- С. 109 - 111.
269. Кожемякин Л.А., Бонитенко Ю.Ю., Иванова Л.И. Этиопатогенез отравлений компонентами технических жидкостей // Воен.-мед. журн.- 1991. -№ 9.- С. 36-39.
270. Козлов В. А., Журавкин И. Н., Цырлова И. Г. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ. Новосибирск: Наука, Сиб. отделение, 1982. - 322 с.
271. Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Егорова В.Н. Новые возможности иммунотерапии с использованием ронколейкина – рекомбинантного ИЛ-2 человека // Терра медика. - 1992. №2. - С. 15 - 17.
272. Козлов В.А., Любимов Г.Ю., Вольский Н.Н. Активность цитохром Р-450-зависимых монооксидаз и функции иммунокомпетентных клеток // Вест. Акад. мед. наук СССР. – 1991. - №12. – С. 8-12.
273. Козлов В.А., Любимов Г.Ю., Вольский Н.Н. Активность цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ и функции иммунокомпетентных клеток //Вестн. АМН СССР.-1991.-№ 12.-С. 8-13.
274. Козлов В.А., Сафронов И.В., Кудаева О.Т., Колесникова О.П. Участие интерлейкина-1 в развитии Th1- и Th2-зависимых вариантов хронической реакции «трансплантат против хозяина» // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.132, №8. – С. 185-187.
275. Козяков В.П., Куценко С.А., Маркин Б.А. и др. Проблемы создания средств оказания экстренной медицинской помощи при авариях на объектах уничтожения химического оружия // Рос. хим. журн. – 1993.- Т.37, №3.-С.99-101.
276. Кокоровцева М.Г. Изыскание нового антидотного средства лечения отравлений дихлорэтаном на основе его биотрансформации и природных механизмов обезвреживания // Автореферат дисс…. докт. мед. наук. – Л., 1982.- 39 с.
277. Колкер И.И., Минкова Г.Л., Победина В.Г. и др. Изучение влияния препарата тимуса (тималина) на заживление ожоговых ран и иммунологическую реактивность организма // Хирургия. 1984, № 10. -С. 115-118.
278. Комиссаренко В.П., Резников А.Г. Ингибиторы функции коры надпочечниковых желез. – Киев, Здоров'я, 1972.- 374 с.
279. Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении. Международная конференция по подписанию Конвенции. – Париж, 1993.
280. Конксиди А.К. Клеточные формы иммунитета при хронической свинцовой интоксикации //Здравоохранение Казахстана, 1983.-№ 7.-С. 34-37.
281. Конопля А.И., Козлов В.Е., Ивакин В.Е., Прокопенко Л.Г. Изучение иммуномодулирующего фактора, выделяемого клетками селезенки при токсическом поражении печени // Пат. физиол. и эксперим. терапия – 1985. - №6. – С. 45-50.
282. Конопля Е.Н., Прокопенко Л.Г. Развитие иммунного ответа при сочетанном действии на организм гепатотропных ядов и высокой внешней температуры // Пат. физиол. и эксперим. терапия.-1994.-№ 12.-С. 27-31.
283. Константинов Б.А., Винницкий Л.И., Иванов В.А и др. Иммунореабилитация в кардиохирургии на примере больных с инфекционным эндокардитом // Inter. J. Immunorehabilitation. – 2000. - Vol. 2, №1. - P. 146-151.
284. Корнева Е.А. Нервная система и иммунитет // Вестн. АМН СССР. - 1985. - № 11.- С. 76 - 85.
285. Корнева Е.А., Клименко В.М., Шхинек Э.К. Нейрогуморальное обеспечение иммуннного гомеостаза. – Л: Наука, 1978.-178 с.

286. Корнева Е.А. Нарушение нейрогуморальной регуляции функций иммунной систем // Вест. АМН СССР.- 1990.- №11.- С. 36-42.
287. Корнева Е.А. Нервная система и иммунитет //Вестн. АМН СССР.-1985.-№11.-с. 76-85.
288. Корнева Е.А., Лесникова М.П., Яковлева Е.Э. Молекулярно-биологические аспекты изучения взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем //Пробл. и перспективы соврем. иммунол.: Методол. анал. –Новосибирск, 1988.- С. 87-100.
289. Коробейникова Э.Н. Фотометрический метод определения малонового альдегида // Лаб. дело.- 1989.- №7.- С.8-10.
290. Космодамианская Д.М. Влияние атмосферных загрязнений на здоровье населения //Гигиена и санитария.-1968.-№2.-С. 100-101.
291. Котловский Ю. В., Бекеров В. Е., Яманова М. В., Иванова В. В. Новые данные о механизме гепатотоксичности акрилатов // Метабол. аспекты действия на организм индустриальных химических соединений.- Красноярск, 1988.- 98 с.
292. Крачковский Е.А. Гигиена применения ядохимикатов. - Киев, Здоров҆я.- 1978.- 240 с.
293. Крыжановский Е.Н., Евсеев В.А. Иммунопатология алкоголизма// Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1986. - №4. – С. 3-8.
294. Крылов С.С., Ливанов Г.А., Петров А.П. и др. Клиническая токсикология лекарственных средств. Холинотропные препараты.- СПб.: Издательство «Лань», 1999. – 160 с.
295. Крылова Ю.Ф Энциклопедия лекарств, регистр лекарственных средств.- М., РЛС, 2001. – 1504 с.
296. Кузнецов В.П., Беляев Д.Л., Сливинская Ю.Г. Коррекция лейкинфероном иммунодефицитных состояний при экспериментальных токсических и медикаментозных гепатитах //Тез. докл. I Съезда иммунологов России, Новосибирск, 23-25 июня 1992.-Новосибирск, 1992.-С. 259.
297. Кузник Б. И., Васильев Н. В., Цыбиков Н. Н. Иммуногенез, гомеостаз и неспецифическая резистентность организма. – М: Медицина, 1989. – 256 с.
298. Кузьминская У.А. Иваницкий В.А. Шилина В.Ф. Патогенетическое значение изменений состояния биогенных аминов в патологии, связанной с воздействием химических факторов внешней среды // Эндокринная система организма и токсические факторы внешней среды. Л., 1980. - С. 210 - 219.
299. Кузьмицкий Б.Б., Дадьков И.Г., Машкович А.Е. и др. Иммуномодуляторы 8-изостероидной структуры как индукторы цитохрома Р-450 печени //Фармакол. и токсикол.-1990.-Т. 53, № 1.-С. 52-55.
300. Кулагин В. К. Патологическая физиология травмы и шока. М.: Медицина, 1978. - 160 с.
301. Кульберг А.Я. Молекулярная иммунология.-М.: Высш. шк.-1985. - 287 с.
302. Кульберг А.Я. Регуляция иммунного ответа.-М.:-1986.- 224 с.
303. Кунцевич А.Д., Баулин С.И., Головков В.Ф. и др. Сравнительный анализ изменений жирового обмена, перекисного окисления липидов и системы гемостаза при действии полихлорированных дибензо-n-диоксинов и радиации // Докл. Академии наук.- 1994.- Т.335, №3.- С. 378-381.
304. Курашов О.В., Троцевич В.А. Применение ацетилцистеина в комплексном лечении больных с острым отравлением 1,2-дихлорэтаном //Врачебное дело.-1992.- №10.-С. 109-111.
305. Курдыбайло Ф.В., Ермаков Е.В., Мурашов Б.Ф. Клиника и лечение отравлений техническими жидкостями. Куйбышев. – 1968. - 61 с.

306. Куркин А.В. Надыров Э.А., Джамабаева С.К. Реактивность тимуса при антигенной стимуляции у потомства алкоголизированных крыс //Иммунные дисфункции /Алма-Атинский ин-т. усоверш. врачей.-Алма-Ата, 1990.-С. 132-134.
307. Курляндский Б.А. Филов В.А. Общая токсикология. – М.: Медицина, 2002.- 608 с.
308. Куценко С.А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита / С.А. Куценко, Н.В. Бутомо, А.Н. Гребенюк и др. -СПб., ООО Изд. «Фолиант», 2004. -528 с.
309. Куценко С.А. Основы токсикологии: Научно-методическое издание / С.А. Куценко. -СПб., ООО Изд. «Фолиант», 2004. -720 с.
310. Кушнир Е.А., Ловать М.Л., Обухова М.Ф., Шмальгаузен Е. В., Данилова Р.А., Ашмарин И.П. Использование полиоксидония для иммунологической коррекции алкогольной мотивации // Иммунология. -2004. - № 2.- с. 87 - 90.
311. Лазарев Н. В. Вредные вещества в производстве. -Л: Химия, 1976.- Т 2.- С. 94-95.
312. Лазарева Д. Н., Алехин Е. К. Стимуляторы иммунитета.- М.: Медицина, 1985.- 256 с.
313. Ларионов В.Г., Кокаровцева М.Г. Морфологический состав периферической крови при интоксикации дихлорэтаном и его метаболитами // Актуальные вопросы гигиены применения пестицидов в различных климато-географических зонах // Ереван, 1976. – С. 131-133.
314. Лебедев В.В. Имунофан – синтетический пептидный препарат нового поколения: иммунологические и патогенетические аспекты клинического применения // Иммунология.-1999.-№1.- С. 25-30.
315. Лебедев В.В., Данилина А.В., Сгибова И.В. и др. Фармакологическая иммунореабилитация в системе специфической иммунопрофилактики и вакцинотерапии: современные подходы и перспективы развития // Inter. J. Immunorehabilitation. – 2000. - Vol. 2, N 1. - P. 146-151.
316. Лебедев В.В., Покровский В.И. Иммунологические и патогенетические аспекты терапии инфекционных болезней регуляторными пептидами // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1999. – № 2. - С. 52-56.
317. Лебедев В.В., Покровский В.И. Имунофан - синтетический пептидный препарат нового поколения // Вестник Российской АМН.-1999.- №4.- С. 56-61.
318. Лемус В. Б., Давыдов В. В. Нервные механизмы и кортикостероиды при ожогах. Л.: Медицина. Ленингр. отделение, 1974. -182 с.
319. Ленинджер А. Биохимия: Молекулярные основы структуры и функции клетки. Под ред. А.А. Баева, Я.В. Варшавского; Пер. с англ. – М.: Мир, 1974. – 957 с.
320. Ливанов Г.А. Клиника, диагностика и лечение острых отравлений алкоголем и его суррогатами // Злоупотребление алкоголем в России и здоровье населения. Осстрые отравления этиловым алкоголем и его суррогатами. Соматическая патология при хронической алкогольной интоксикации. М.: 2000. - С. 62-106.
321. Ливанов Г.А., Бонитенко Е.Ю., Васильев С.А. Новые походы к терапии острой алкогольной интоксикации // Метадоксил в лечении патологии печени различного генеза.- СПб., 2001.- 10-20 с.
322. Литовская А. В., Оскерко У. Ф., Егорова И. В., Шальнова В. А. Разработка экспериментальной модели оценки иммунотоксичности малых концентраций ксенобиотиков //Иммунология.-1997.-№4.-С. 53-57.
323. Лоуренс Д.Р., Беннитт П.Н. Клиническая фармакология: В 2-х т. Пер. с англ.- М.: Медицина, 1991.- Т.2.- 704 с.
324. Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления / Пер. с нем. - М.: Медицина, 1983. - 560 с.
325. Лужников Е.А. Клиническая токсикология.-М.: Медицина, 1999.- 416 с.

326. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления: Руководство для врачей. 2-е изд., перераб и доп. - М.:Медицина, 2000.- 434 с.
327. Лужников Е.А., Лесовик Ж.А., Новиковская Т.В. Метаболизм 1,2-дихлорэтана в организме человека после острых отравлений // Суд.-мед. экспертиза. – 1985. - №2. – С. 47-49.
328. Лужников Е.А., Новиковская Т.В., Лисовик Ж.А. Поиски специальной терапии при острых отравлениях дихлорэтаном // Гигиена труда и проф. заболеваний.- 1989.- № 6.- С. 37-38.
329. Лукиенко П.И., Заводник Л.Б., Бушма М.И. Последствия индукции цитохромов //Эксперим. и клин. фармакол.-1995.-№ 1.-С. 68-73.
330. Лукомская М.И. Алкоголизм в общемедицинской сети (выявление, типология, лечебно-профилактические программы): Автореф. дисс…. докт. мед. наук.- М., 1992.-32 с.
331. Лукьянова Л.Д., Михайлова Н.Н., Фоменко Д.В., Кизиченко Н.В., Душина Е.Н. Об особенностях нарушений энергетического обмена при травматическом шоке и возможности их фармакологической коррекции // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.132, №9. – С. 263-267.
332. Любимова Н.Б., Леонова Г.Н. Гормоны тимуса в лечении и профилактике флавивирусной инфекции в условиях эксперимента//Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. –1995.- №5.- С.105-108.
333. Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков.- Новосибирск, 1981.-240 с.
334. Маркизова Н.Ф., Гребенюк А.Н., Иваницкий Ю.Ю. Токсикология спиртов: Учебное пособие.- СПб.: Изд-во «Лань», Военно-медицинская академия, 2001.- 120 с.
335. Маркова И.В., Афанасьева В.В., Цыбулькин Э.К., Неженцев М.В. Клиническая токсикология детей и подростков. – Санкт-Петербург, Интермедика, 1998. – 304 с.
336. Марокко И.Н., Крмечковская В.В., Маликова Н.А. и др. Взаимосвязь тяжести проявлений экспериментальной пищевой анафилаксии и соотношения цитохромов Р-450 W и Р-450 L //Бюл. экспер. биол. и мед.-1991.-№ 8.-С. 200-201.
337. Мартынова Н.А. Особенности заживления кожных ран в условиях алкогольно-суррогатной интоксикации в сочетании с холодовым воздействием: Автореф. дисс. … канд. мед. наук. –СПб., 1992. - 23 с.
338. Мартынова Т.В., Брызгина Т.М., Павлович С.И., Алексеева И.Н. Изменение активности антигеннеспецифических Т-хелперов и Т-супрессоров у кроликов в условиях поражения печени четыреххлористым углеродом // Физиол. журн. – 1991. – Т.37, №1. – С. 74-80.
339. Матлина Э.Ш. Флюорометрический метод определения катехоламинов в тканях организма // Методы исследования гормонов и медиаторов в клинике и эксперименте.-М.: Медицина.-1965.- С. 84-87.
340. Машковский М.Д. Лекарственные средства.– 12-е изд., перераб. и доп., Ч.2. - М.: Медицина, 1993.- 685 с.
341. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.- Новосибирск: Наука. 1983.-254 с.
342. Маянский Д. Н. Система фагоцитов: методологические проблемы //Пат. физиол. и эксперим. терапия.–1986.-Вып. 2.-с. 83-86.
343. Медведев В.Н. Взаимодействие физиологических и психологических механизмов в условиях адаптации // Физиол. человека.- 1998.- Т.24, №4.- с. 7-13.
344. Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И. Пестициды и проблемы здравоохранения. – Журн. Всес. хим. об-ва им. Менделеева.- 1968.- №3.- С. 263-271.

345. Медуницин Н.В. Регуляция вакцинального иммунитета // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 137-139.
346. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. - М.: Медицина-1984.- 272 с.
347. Мехтиев С. Д. Нитрилы // Мехтиев С.Д. Ацетонитрил. – Баку: Гос. издат., 1966.- С. 119-124.
348. Михайлова А.А. Миелопиды и иммунореабилитация // Inter. J. Immunoreabilitation. - 1997. - № 5. - с. 5.
349. Михайлова М.Н. Использование имунофана для коррекции изменений гематологических показателей, вызванных циклофосфаном / М.Н. Михайлова, Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко // Inter. J. Immunorehabilitation. Физиология и патология иммунной системы. - 2003. - Т.5. - №2. - С. 230.
350. Михайлова А.А., Захарова Л.А., Кирилина Е.А., Сарыбаева Д.В. Механизмы снижения иммуного ответа при стрессе и его коррекция миелопидом // Стресс и иммунитет: Тез. докл. Всес. конф. «Стресс и иммунитет (психонейроиммунология).- Ростов н/Д, 1989.- С.31-32.
351. Михальчик Е.В., Иванова А.В., Ануров М.В., Титкова С.М., Пеньков Л.Ю., Коркина Л.Г. Профилактическое и лечебное действие комплексного антиоксидантного препарата при ожогой травме у крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 2004.- Т.138, №9.- С. 299-301.
352. Михеева А.Н. Кардос В.С., Клионский А.Г. и др. О нормах ферментативной активности лейкоцитов //Лаб. дело.-1970.-№ 1.-С. 5-7.
353. Могуш Г. Острые отравления / Пер. с рум. - Бухарест, Медицинское издательство, 1984. - С. 440 - 464.
354. Молотков А.О. Нарушения физиологических механизмов регуляции системы иммунитета при остром отравлении фосфорорганическим соединением карбофосом: Автореф. Дисс. ... канд. мед. наук.- М., 2002.-24 с.
355. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем - цитомедины // Успехи совр. биологии.- 1983.- Т. 96, №3. – С. 1004-1007.
356. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Характеристика и изучение механизма действия фактора тимуса (тимарина) // Докл. АН СССР. – 1978.- Т.240, № 4. – С. 339-346.
357. Москалева Е.Ю., Федоров Н.А., Кизенко О.А., Караулов А.В. Повреждения ДНК лимфоцитов и иммунодефицитные состояния // Вестн. РАМН. - 1993. - № 4. - С. 12 - 17.
358. Муразян Р. И., Пангенов Н. Р., Голосова Т. В., Аникина Т. П. Значение иммунотерапии в комплексном лечении ожоговой болезни // Гематология и переливание крови. 1984, № 7. - С. 3 - 8.
359. Мутускина Е.А., Багдасаров Л.А., Трубина И.Е., Заржецкий Ю.В. Некоторые показатели стресс-реакции организма на разных этапах постреанимационного периода // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.133, №1. – С. 38-41.
360. Мухамбетов Д.Д., Шайдаров М.З., Абрахманова Х.М. Коррекция иммуномодуляторами постреанимационной иммуносупрессии // Терминальные состояния и постреанимационная патология в эксперименте и клинике. - Алма-Ата. - 1990. - С. 38 - 39.
361. Надариешвили К.Ш., Месхишвили И.И., Кахиани Д.Д., Ормцадзе Г.Л., Хведелидзе М.Т., Читанава Е.Г. Действие малых доз алкоголя на сердечный ритм кроликов // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 2004.- Т.138, №9.-С. 306-310.
362. Нацюк М.В. Экспериментальное исследование патогенетической терапии ЯТЖ (дихлорэтан, четыреххлористый углерод) // Автореферат дисс. ... докт. мед. наук. –

Л., 1979.- 45 с.
363. Нацюк М.В., Чернуха Ф.С., Басенко Т.А., Федуров В.В. Влияние острой интоксикации дихлорэтаном на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс // Физиол. и токсикол. – 1974. - №1. – С. 92-93.
364. Невидимова Т.И. Психотропные эффекты тимогена // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1995.- Т.119, №2.-С. 199-200.
365. Невидимова Т.И., Н.И. Суслов. Психотропные эффекты тимогена // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1995.- Т.119, №2.-С. 199-200.
366. Немцов А.В. Алкогольная ситуация в России. М.:Медицина, 1995.- С. 134
367. Нестерова И.В. Стратегия и тактика иммунотерапии вторичных иммунодефицитных состояний с инфекционным синдромом // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 139-140.
368. Нечаев В.И., Крылов В.В., Хованов А.В. Иммуномодуляторы при лечении больных туберкулезом по стратегии DOTS // Inter. J. Immunorehabilitation. Физиология и патология иммунной системы. – 2003.- Т. 5, №2.- С. 204.
369. Нибоер Э., Россетто Ф.Э., Мекон К.Р. Токсичность соединений никеля //Некотор. вопр. токсич. ионов металлов.- М., 1993.-С. 270-303.
370. Николаев А. И., Тулякова С. Р., Султанкулов А., Рихсиева С. И. Изменение клеточных и гуморальных факторов иммунитета у морских свинок под влиянием нового гербицида тоулина //Докл. АН УзССР.-1988.-№ 12.-С. 54-55.
371. Николаев А.И. Пономарева Л.А. Гиллер И.С. и др. Иммунодепрессивное действие некоторых ядохимикатов //Фармакол. и токсикол.-1972.-Т. 35, № 3. -С. 352-355.
372. Новикова Л.В., Лебедева К.М., Яковлева Э.М. и др. Иммунологические методы исследования. – Саранск, 1981. – 92 с.
373. Нужный В.П. Снижение токсичности алкогольных напитков – перспективное направление в современной наркологии и биотехнологии // Токсикол. вестник.- 2001.- №2. – С. 6-13.
374. Нужный В.П., Прихожан Л.М. Новый взгляд на проблему токсичности алкогольных напитков// Токсикол. вестник.- 1996.- №5. – С. 9-16.
375. Нужный В.П., Савчук С.А., Тюрин И.А., Белов С.К. Проблема денатурирующих добавок к этиловому спирту в связи с исследованием образцов нелегальной алкогольной продукции // Токсикол. вестник.- 2004.- №3. – С. 7-13.
376. Осипов С.Г., Титов В.Н. Биологические функции системы комплемента //Иммунология.-1984.-№ 6.-С. 82-83.
377. Осипова Л.О. Исследование влияния иммуномодулятора тимогена на функцию «активных» розеткообразующих лимфоцитов in vitro у больных туберкулезом легких // Матер. 18 науч.-практич. конф. учен. и спец. КГИУВ/Киев. гос. ин-т усо-верш. врачей.-Киев, 1990.-С 3-4.
378. Павлов А.В., Борисенко Н.Ф., Гуменный В.С. К проблеме влияния пестицидов на здоровье (обзор) // Гигиена и санитария. – 1991. - №4. – С. 60.
379. Павляк Ф.Л., Вельгош Ш.М., Хиттнер Э. Повышенное торможение пролиферации лимфоцитов селезенки 2,3,7,8-тетрахлородибензо-n-диоксином у мышей линии С57В1/10 (Ah+Ah+) по сравнению с мышами линии ДВА/2 (Ah-Ah-) //Бюл. экспер. биол. и мед.-1998.-№ 3.-С. 331-333.
380. Парк Д. В. Биохимия чужеродных соединений.-М.: Медицина, 1973. - 82 с.
381. Переверзев А.Е. Кроветворные колониеобразующие клетки и физические стресс-факторы. Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1986.- 172 с.
382. Перелыгин В.М. Шнирт М.Б., Арипов О.А. Действие некоторых пестицидов на иммунологическую реактивность // Гигиена и санитария.-1971.-№12.-С. 29-33.

383. Петров А.П., Софронов Г.А., Нечипоренко С.П., Сомин И.Н. Антидоты фосфорорганических отравляющих веществ // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. Хим. об-ва им Д.И. Менделева). - 2004. – Т. XLVIII, № 2. –С.110-116.
384. Петров Р. В. Иммунология. - М.: Медицина 1987. – 416 с.
385. Петров Р.В. Синтетические иммуномодуляторы. - М.: 1991. - 199 с.
386. Петров Р.В., Кузнецова С.Ф., Ярилин Ф.Ф. Влияние миелопида на костномозговые предшественники Т-лимфоцитов // Докл. АН СССР. - Т. 305, № 3. - С. 764 - 707.
387. Петров Р.В., Михайлова А.А., Фонина Л.А. Миелопептиды и иммунный статус // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 204.
388. Петров Р. В., Хаитов Р. М. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза // Гомеостаз. – М.: Медицина, 1981.- С. 312-365.
389. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа. – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
390. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Сеславина Л.С. Подавление эндоколонизации селезенки у сублетально облученных мышей при трансплантации аллогенных лимфоидных клеток // Радиология.-1970.-№ 4.-С. 532-535.
391. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Миграция стволовых клеток из экранированного костного мозга у неравномерно облученных мышей //Радиология.-1972.- №1.-С. 69-76.
392. Петрусенко Г.П., Тумилович М.К. Активность ферментов углеводно-энергетического и нуклеинового обмена в иммунокомпетентных клетках крыс при аммонийной и свинцовой интоксикации // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты – СПб.: ООО «Изд. Фолиант», 2004.- С. 128-130.
393. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения // Цитокины и воспаление.-2004. -Т. 3, № 3. - С. 41-47.
394. Пирцхалава А.В. Гетерогенная реакция острого отравления организма хлорофосом //Сообщ. АК ГССР.-1989.-Т. 133, № 2.-С. 421-424.
395. Плецитый К.Д., Сухих Г.Г. Витамин А стимулирует иммунный ответ к тимусзависимым антигенам и повышает активность естественных киллеров //Докл. АН СССР.-1984.-Т. 278, № 4.-С. 1017-1019.
396. Плецитый К.Д., Сухих Г.Т. Экспериментальный анализ иммунностимулирующих свойств витамина А. // Бюл. экспер. биол. и медицины.– 1985.- Т.100, №11.- С. 600-602.
397. Плужников Н.Н., Бакулина Л.С., Легеза В.И. и др. Некоторые аспекты антирадикальной защиты мембран // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины / Под обшей ред. Н.Н. Плужникова (Научн. тр./ НИИЦ (МБЗ) ГосНИИИ военной медицины, Т.4). – СПб., 2003. - С. 123-139.
398. Плужников Н.Н., Гайдар Б.В., Чепур С.В. и др. Редокс-регуляция: фундаментальные и прикладные проблемы // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины / Под обшей ред. Н.Н. Плужникова (Научн. тр./ НИИЦ (МБЗ) ГосНИИИ военной медицины, Т.4). – СПб., 2003.- С. 139-173.
399. Плужников Н.Н., Легеза В.И., Галеев И.Ш. и др. Комплексное использование антиоксидантов с различными механизмами действия – перспективное направление повышения эффективности терапии радиационных поражений // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины / Под обшей ред. Н.Н. Плужникова (Научн. тр./ НИИЦ (МБЗ) ГосНИИИ военной медицины, Т.4). – СПб., 2003.- С. 173-189.

400. Подосинников И.С., Гурина О.П., Бабаченко И.В. Влияние миелопида на функциональную активность лейкоцитов периферической крови // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1991. - №4. - С. 9 - 12.
401. Покровский В.И., Лебедев В.В., Шелепова Т.М. и др. Имунофан – пептидный препарат нового поколения в лечении инфекционных и онкологических заболеваний: свойства, область применения // Практикующий врач. - 1997. – № 12. - С.14-15.
402. Попов В.А., Шальнова Г.А., Кузьмина Т.Д., Уланова А.М. Иммуноморфологические эффекты при воздействии бериллия и его соединений (Экспериментальное исследование) //Сб. научн. тр. НИИ гигиены труда и проф. заболев. АМН СССР, 1987.-№ 31.-С. 184-188.
403. Попова Е.А., Лисун И.И., Алимов А.Д. и др. Иммунофармакотерапия имунофаном в лечении больных с гнойными менингитами // Inter. J. Immunorehabilitation. Физиология и патология иммунной системы. – 2003.- Т. 5, №2.- С. 252.
404. Присяжнюк Т.Н., Петровская О.Г., Кузьменко Н.М. Особенности воздействия хлорофоса на организм теплокровных //Гигиена и санитария.-1986.-№ 6.-С. 65-67.
405. Прокопенко Л.Г. Изменение функции иммунорегуляторных клеток под влиянием фактора селезенки животных, отравленных гепатотропным ядом // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1985. - №4. – С. 72-76.
406. Прокопенко Л.Г., Кедровская Н.Н. Иммунорегуляторные факторы сыворотки при токсическом поражении печени // Пат. физиол. и эксперим. терап. – 1983. - №4. – С. 56-61.
407. Прокопенко Л.Г., Кедровская Н.Н. Козлов В.Е. Взаимосвязь активности протеолитических ферментов крови и их ингибиторов с образованием медиатора иммунного ответа при токсическом поражении печени / Кур. мед. институт. Курск, 1987. – 16 с. – Деп. в ВИНИТИ 18.05.88, №3827-В88.
408. Прокопенко Л.Г., Конопля А.И. Влияние четыреххлористого углерода на выделение иммуностимулирующего фактора спленоцитами животных // Фармакол. и токсикол. – 1982. - №6. – С. 61-65.
409. Прокопенко Л.Г., Конопля А.И., Кедровская Н.Н. Принципы «плюс–минус» взаимодействия в регуляции иммунного ответа при токсическом поражении печени // Пат. физиол. и эксперим. терап. – 1983. - №5. – С. 59-63.
410. Резников К.М., Винокурова О.В. Антиаритмические свойства тимогена // Эксперим. и клин. фармакология.-1994.-Т.57, № 6.-С. 31-33.
411. Рембовский В.Р., Горшенин А.В., Белобровкин Е.А. Анализ иммунотропного действия кожно-нарывных отравляющих веществ // Доклады Академии военных наук. Серия Прикладные проблемы уничтожения запасов химического оружия и военной экологии. Поволжское отделение. – Саратов, «Слово».- 2000.- С.137-143.
412. Ремезов А. И., Башмаков Г. А. Методы определения естественной (неспецифической) резистентности организма.-Л.,1976.- 65 с.
413. Ройт А. Основы иммунологии / Пер. с англ. М.: Мир, 1991. - 327 с.
414. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология / Пер. с англ. - М.: Мир, 2000. - 582 с.
415. Романенко О.И., Гребенюк А.Н. Лейкоцитарная защита при острых отравлениях // Морской мед. журн. –1997.- Т.4, №4.- С. 8-11.
416. Ротенберг Ю.С. Классификация ксенобиотиков по локализации их действия на ферментные системы митохондрий // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1982.- №9.-С. 42-45.
417. Ротенберг Ю.С. Токсиколого-гигиенические аспекты биоэнергетики // Всесоюзн.

учред. конф. по токсикологии. Тез. докл.- М., 1980.- С.108.
418. Руднева Т.Б. Осипова Е.Ю., Михайлова А.А., Манько В.М. Коррекция миелопидами дифференцировки кроветворных клеток предшественников у мышей с экспериментальным Т-иммунодефицитом // Бюл. экспер. биол. и мед.- 1989.- Т.107, №6.- С.718-720.
419. Румянцев А.П., Тиунова Л.В., Остроумова И.А. Метаболизм соединений жирного ряда // Итоги науки и техники: Серия: Токсикология.- М., ВИНИТИ, 1981. – Т. 12. – С. 65-116.
420. Рыбников В.Н., Бровкина И.Л., Утешев Б.С. Влияние лизоцима на функционально-метаболическую активность полиморфно-ядерных лейкоцитов в условиях острой кровопотери // Эксперимент. и клин. фармакол.-2004.-Т.67, №2.- С. 45-48.
421. Рыболовлев Ю.Р. Прогнозирование действия ксенобиотиков на человека // Фармакол. и токсикол. – 1982.- №1.- С. 110-114.
422. Саватеев Н.В. Военная токсикология, радиология и медицинская защита. – Л.: ВмедА, 1978.- 333 с.
423. Саватеев Н.В., Куценко С.А. Характеристика токсического действия веществ, представляющих опасность при разрушении промышленных объектов.-Л.: ВмедА им. С.М. Кирова, 1982.- 44 с.
424. Саватеев Н.В., Куценко С.А. Ядовитые вещества, выделяющиеся при разрушении промышленных объектов, и мероприятия по оказанию медицинской помощи пострадавшим // Воен.-мед. журн. – 1993.- №6.-С. 36-40.
425. Савлуков А.И., Мышкин В.А., Ибатуллина Р.Б., Еникеев Д.А. Влияние триметил-5-гидроксиурацила и витамина Е на морфологическое состояние печени крыс при отравлении дихлорэтаном // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты – СПб.: ООО «Изд. Фолиант», 2004.- С. 288-289.
426. Савченко А. А., Булыгин В. Г., Федюкович Л. В. Влияние производных акриловой кислоты на метаболизм иммунокомпетентных клеток крыс in vivo //Институт мед. пробл. Севера СО РАМН.- Красноярск.-1995.-15 с.: Деп. в ВИНИТИ 05. 07. 95.-№2015-В95.
427. Савченко М. В. Влияние роданистого аммония и тиомочевины на иммунологическую систему организма //Гигиена и санитария.-1987.-№ 11.-С. 29-32.
428. Сакаева Д.Д, Лазарева Д.Н. Влияние гентамицина на иммунитет при иммунодефиците и действие иммуномодуляторов // Эксперимент. и клин. фармакол..-1998.- Т.61, №3. - С. 50-53.
429. Саноцкий И. В. Пути разработки ускоренных методов установления предельно допустимых концентраций в воздухе рабочей зоны //Гигиена труда.-1969.-№ 7.-С. 4-7.
430. Саприн А.Н., Караулов А.В., Хроменков Ю.И., Пирузян Л.А. О взаимосвязи активности цитохрома Р-450 в лимфоцитах с их иммунной функцией //Докл. АН СССР.-1982.-Т. 267, № 5.-С. 1276-1280.
431. Свирид В.Д. Синтез специфических белков в клетках некоторых органов белых мышей при действии температурного фактора внешней среды // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Т.133, №3. – С. 331-336.
432. Селье Г. На уровне целостного организма / Пер. с англ.- М.,1972.
433. Семина О.В., Семенец В.И. Замена акцессорных Т-лимфоцитов синтетическими пептидами в процессе формирования селезеночных кроветворных колоний //Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1993.- №2.-С. 298-299.
434. Семина О.В., Семенец В.И., Дейгин В.И. Стимуляция тимогеном (GW-

дипептидом) восстановления кроветворения у облученных и подвегнутых действию цитостатика мышей // Иммунология.- 1997.-№1.- С.33-35.
435. Сепетлиев Д. Н. Статистические методы в научных медицинских исследованиях.-М.: Медицина, 1975.- 296 с.
436. Сибиряк С.В., Алехин Е.К., Хайбуллина С.Ф., Рябчинская Л.А. Влияние некоторых стимуляторов иммунитета на антиинфекционную резистентность и активность монооксигеназной системы печени //Фармакол. и токсикол.-1990.-Т. 53, № 2.-С. 55-57.
437. Сидельникова Н. М. Характер и механизмы нарушения неспецифической резистентности организма и специфической иммунной защиты при остром отравлении веществом BZ // Дисс. … канд. мед. наук. – Саратов, СГМУ. -2004.- 168 с.
438. Сидорин Г.И., Дьякова Л.В., Луковникова Л.В. и др. Нитрилы: токсикокинетика, токсичность и опасность // Токсикол. вест.- 1996.- №1.- С.19-22.
439. Сидорин Г.И., Луковникова Л.В., Фролова А.Д. Адаптация как основа защиты организма от вредного действия химических веществ // Рос. хим. ж. (Ж. Хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)- 2004. – Т. XLVIII, № 2. – С. 44-50.
440. Сильвестров В.П., Эйнер Э.А. Влияние анаболического стероида анадура на гуморальный иммунитет и «острофазовые» белки при острой пневмонии // Фармакол. и токсикол.- 1983.- № 2. – С. 100- 103.
441. Скальная М.Г., Жаворонков А.А., Скальный А.В., Рябчиков О.П., Морфологическая характеристика тимуса беременных и новорожденных мышей при экспозиции арсенитом натрия // Архив патологии. –1995.- Т.57, № 2.- с.52 – 58
442. Смахтин М.Ю., Горяйнов И.И., Конопля А.И. Иммуномодулирующие факторы спленоцитов в условиях воздействия этанола и тетрахлорметана //Научн. конф. мол. ученых России, посвящ. 50-летию АМН: Тез. докл. /РАМН. Москва, 1994.-С. 425-426.
443. Смахтин М.Ю., Конопля А.И., Чалый Г.А. Влияние тетрахлорметана и этанола на выделение спленоцитами крыс иммуномодулирующих факторов //Эксперим. и клин. фармакол.-1995.-№ 4.-С. 48-50.
444. Смирнов В.С., Петленко С.В., Сосюкин А.Е. Иммунотоксичесие эффекты химических ксенобиотиоков // Иммунодефицитные состояния / Под ред. В.С. Смирнова и И.С.Фрейдлин.- СПб: «Фолиант», 2000.- 337-367.
445. Сосюкин А.Е., Софронов Г.А., Гребенюк А.Н., Романенко А.И. Влияние ксенобиотиков на состояние нейтрофилов // Морской мед журн.- 1997.- Т.4, №8.-С. 26-31.
446. Старченко А.А., Красковская С.В. Система индивидуальной психо- и иммунотерапии в нейроанестезиологической практике// Анестезиол. и реаниматол.-1996. -№3.- С.53-57.
447. Стасий Е.Д., Балаболин И.И., Степаненко Р.Н. Иммуномодулирующая терапия при пищевой инфекции у детей // Иммунология. – 1990. - №5. – С. 45-48.
448. Степаненко Р.Н., Рязанов Н.К., Молдокулов О.А., Власенко Р.Я. Миелопид: иммунокоррегирующая активность при переломах лицевых костей и травметическом остеомиелите // Иммунология. - 1991. - № 1. - С. 44 - 47.
449. Стеценко О.Н., Линдер Д.П., Поберий И.А. и др. Влияние Т-активина на периферические органы иммунитета животных и тимэктомированных мышей // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1984.-Т. 97, № 3. -С. 321-323.
450. Страйер Л. Биохимия : Пер. с нем. - М.: Мир, 1985. - Т 2. - С. 71 - 82.
451. Стрельникова Л. А., Раткина В. Г. Влияние атмосферных загрязнений на активность лизоцина слюны и бактерицидность кожи у детей //Тр. Томск. мед. ин-

т.-1983, Т. 31.-С. 240-243.
452. Стручков В. И., Прозоровская К. Н., Недвецкая Л. М. Иммунология в профилактике и лечении гнойных хирургических заболеваний. М.: Медицина, 1978. - 269 с.
453. Судаков К.В. Основы физиологии функциональных систем.- М.: Медицина, 1983.- 272 с.
454. Сухих Г.Т., Касабулатов Н.М., Ванько Л.В. и др. Соотношение Th1- и Th2-лимфоцитов в периферической крови и уровни провоспалительных цитокинов в лохиях родильниц с эндометритом // Бюл. эксперим. биол. и мед.-2005.-Т. 140, № 12.-С. 622-624.
455. Сухих Г.Т., Малайцев В.В. Богданова И.М. Интерлейкин-2 и его возможная роль в патогенезе стрессорных изменений иммунной системы //Докл. АМ СССР, 1984.-Т. 278, № 3.-С. 762-765.
456. Таранов В.А., Короткова М.Н. Действие Т-активина на макрофаги in vitro // Интерлейкины и другие медиаторы в клинической иммунологии. – М., 1989. – С. 56-60.
457. Тиунов Л.А. Трихлорэтилен. Хлорпроизводные непредельных углеводородов // Вредные химические вещества. Углеводороды. Хлорпроизводные углеводородов: Справ. изд. / Под. ред. В.А. Филова и др. – Л.: Химия, 1990.- С. 438-454.
458. Тиунов Л.А. Четыреххлористый углерод. 1,2–дихлорэтан. Хлорпроизводные алканов. // Вредные химические вещества. Углеводороды. Галогенпроизводные углеводородов; Справ. изд./ Под. ред. В.А. Филова и др. – Л.: Химия, 1990.- С. 337-351; 357-372.
459. Тихонов В. Н. К оценке изменений массы внутренних органов животных в токсикологических исследованиях //Гигиена и санит. –1981.-№7.-С. 58-59.
460. Тодрия Т.В., Цандер А. Теломеразная активность в клетках 9-суточных селезеночных колоний, образованных костным мозгом нормальных и тимэктомированных мышей // Бюл. эксперим. биологии и мед.-2004.-Т. 138, № 11.-С. 567-569.
461. Торчинский Ю.М. Сера в белках. – М., Наука, 1977. – С. 43-46.
462. Трахтенберг И.М., Шафран Л.М. Тиоловые яды // Общая токсикология / Под редакцией Б.А. Курляндского, В.А. Филова – М.: Медицина, 2002. - С. 111-176.
463. Трубников Н. А. Токсикологическая характеристика ацетонитрила: Автореф. дис. … канд. мед. наук. – Ярославль, 1966.- 24 с.
464. Турсунов Б.С., Махмудов К.Д., Туйчиев Д.А. Целесообразность применения миелопида (В-активина) в комплексном лечении ожоговой болезни // Иммунология. - 1992. - № 6.- С. 42 - 43.
465. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Медицина, 1975.- 295 с.
466. Утешев Б. С. О некоторых методологических вопросах скрининга иммунотропных средств // Фармак. и токсикол.- 1984.-№3.- С. 5-13.
467. Утешев Б.С., Сергеев А.С., Коростелев С.А. Анализ современных направлений в создании иммунотропных средств // Эксперим. и клин. фармакол.-1995.-Т.58, №3.-С.3-7.
468. Федоров С.М., Мазина Н.М., Бухова В.П., Куршакова Т.С. Иммунологические показатели у больных профессиональными дерматозами, вызванными фосфорорганическими пестицидами //Вестн. дерматол. и венерол.-1988.-№ 8.-С. 46-48.
469. Феерман И.С., Бонгард Э.М., Лащенко Н.С. К вопросу о хронической интоксикации хлорофосом //Гиг. труда.-1964.- № 11.-С. 36-38.

470. Филатова Г.Ф., Кузнецова Г.А., Бобков Ю.Г. Изменение содержания катехоламиов в тканях крыс после холодового воздействия // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1987. - №4. – с. 48-50.
471. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. - М.: Медицина, 1984. - 271 с.
472. Фридман Г.И. Влияние севина, хлорофоса и ДДТ на некоторые специфические иммунологические показатели иммунобиологической и общей реактивности организма (к проблеме токсических воздействий малой интенсивности) //Вопросы гигиены и токсикологии пестицидов. М.: Медицина, 1970.-С. 139-145.
473. Фридман К.Б., Лукьянова Ю.А., Ларина О.О. Аспект алкоголизации населения Санкт-Петербурга по материалам санитарно-гигиенического мониторинга // IV-я городская научно-практическая конференция «Медицинская профилактика наркологических заболеваний». СПб., 2003. – С. 12-14.
474. Фридман Л.С., Флеминг Н.Ф, Робертс Д.Х., Хайман С.Е. Наркология / Пер. с англ. – М.; СПб.: Изд. БИНИМ – Невский Диалект, 1998. 318 с.
475. Фримель Х., Брок Й. Основы иммунологии / Пер. с нем. - 5-е изд. - М.: Мир, 1986. - 254 с.
476. Фролов Б. А., Афонина С. Н., Меерсон Ф. З. Роль соотношения цАМФ/гЦМФ в постстрессорной активации первичного иммунного ответа //Пат. физиол. и эксперим. терапия.–1985.-№5. – С. 23-26.
477. Хабибуллаев Б.Б. Коррекция вторичных иммунодефицитов с помощью металлсодержащих соединений хитозана // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. - С. 207.
478. Хавинсон В.Х, Морозов В.Г. Серый С.В. Иммунокоррегирующая терапия тимогеном при заболеваниях и травмах// Взаимодействие нервной и иммунной систем. Тез. докладов Всесоюзного симпозиума (Оренбург, 28-30 августа 1990 г.). Л. – Ростов-на-Дону.- 1990. -С.163.
479. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Иммуномодулирующее действие фактора тимуса в патологии // Иммунология. – 1981. - № 5. – С. 28-31.
480. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Экспериментальное клиническое изучение нового иммуномодулирующего препарата – тималина // Воен.-мед. журн. –1982.- № 5. – С. 37-39.
481. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. – 2-е изд., перераб. и доп. -М.: Медицина, 2002.- 536 с.
482. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Современные подходы к оценке основных этапов фагоцитарного процесса // Иммунология. –1995.- №4.- С. 3-8.
483. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология.- М.: Изд-во ВНИРО, 1995.- 219 с.
484. Хаитов Р.М., Рябова Л.В. Зависимость дифференцировки стволовых кроветворных клеток от функционального состояния тимуса // Онтогенез. - 1978. - № 4. - С. 496 - 410.
485. Ханафиева И.В., Добржанская Р.С., Хусейнова Х.Х. Воздействие и активина и тималина на лейшманийную инфекцию в эксперименте // Докл. 5 Всес. съезда протозоологов, Витебск, сент., 1992 // Цитология. – 1992. – Т. 34, № 4.-С. 158.
486. Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. - М.: Медицина, 1983. - 319 с.
487. Хлопушина Т.Г., Кринская А.В. Влияние адамантиламидов 1,3-дифенилпиразол-4-карбоновых кислот на систему цитохрома Р-450 печени //Фармакол. и токсикол.-1991.-№ 4.-С. 39-41.
488. Хлопушина Т.Г., Лысенкова Е.М., Ковалев И.Е. Состояние цитохром-Р-450

зависимой системы метаболизма при развитии иммунного ответа //Фармакол. и токсикол.-1987.-№ 3.-С. 55-57.
489. Ховиева Л.А., Штенберг А.И. Иммунологическое состояние организма при воздействии малых доз хлорофоса и метилнитрофоса //Гиг. и санитария.-1976.-№ 1.-С. 98-100.
490. Холмухамедова Н.М., Николаев А.И., Зиямутдинова З.К. Фосфо- и гликолипидный спектр органов иммунной системы при экспериментальном хроническом токсическом гепатите //Мед. журн. Узбекистана.-1991.-№ 3.-С. 56-61.
491. Хусинов А.А., Хайдарова Д.С., Гущин Г.В., Лесникова М.П. Нейроэндокринная система и специфические факторы иммунитета при отравлении пестицидами //Бюл. эксперим. биологии и мед.-1991.-Т. 111, № 12.-С. 623-624.
492. Чейдо М.А., Идова Г.В., Папсуевич О.С. Участие низкомолекулярных пептидов и их аналогов в иммуномодуляции //Ин-т. физиол. СО АМН СССР.-Новосибирск, 1990.-12 с.-Деп. в ВИНИТИ 27.07.9., № 4278-В90.
493. Чекман И.С., Гриневич А.И. Цитохром Р-450: взаимодействие лекарств и ядов //Фармакол. и токсикол.-1984.-№ 1.-С. 119-123.
494. Чекнёв С.Б., Бабаева Е.Е Активность лимфоцитов человека в присутствии соединений, содержащих углеводные компоненты // Бюл. эксперим. биологии и мед.-2004.-Т. 138, N 11.-С. 555-558.
495. Черноусов А.Д., Юрин Б.Л. Выделение Т-супрессоров, афинных к антигену и их взаимодействие с эффекторами гиперчувствительности замедленного типа в различных экспериментальных условиях // Иммунология. – 1982. - №1. – С. 13-16.
496. Чертков И.Л., Дерюга Е.И., Дризе Н.И. Примитивная стволовая кроветворная клетка// Вест. АМН СССР. –1990.- №9. С.35-37.
497. Чугунихина Н.В., Хасанова М.И. Влияние пестицидов на неспецифическую сопротивляемость организма инфекции. // Гиг. и санитария. - 1994. - № 1. - с. 19 - 21.
498. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма.- СПб.: Издательство «Лань», 1998.- 272 с.
499. Шафеев М. Ш. Влияние некоторых пестицидов и их комбинаций на показатели иммунитета и неспецифической реактивности организма: Автореф. дис. … канд. мед. наук.- Казань, 1978.-26 с.
500. Шафеев М.Ш. Влияние хлорофоса на некоторые показатели иммунологической реактивности организма // Изучение экстремальных состояний.-Казань, 1976.-С. 60-63.
501. Шведов В. Л., Анисимова Г. Г. Изменение некоторых показателей клеточного иммунитета у крыс при хроническом радиационно-химическом поражении //Гигиена и сан.-1989.-№ 7.-С. 16-19.
502. Шилов Ю.И., Ланин Д.В. Влияние гидрокортизона на функции фагоцитирующих клеток брюшной полости крыс в условиях блокады β-адренорецепторов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.131, №10. – С. 439-442.
503. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы иммуностимулирующей терапии // Иммунология.-1991.-№ 3.-С. 7-10.
504. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы фармакодинамики и фармакокинетики иммуностимулирующих препаратов // Иммунология.-1994.-N 6.-С. 27-29.
505. Ширшев С.В. // Зависимость внутриклеточного уровня цАМФ интактных спленоцитов от популяционного состава клеточной суспензии и активности циклооксигеназы // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1998.- №6.- С. 666-669.
506. Шляхов Э. Н., Гылка В.В. Тактивин – иммуномодулирующий препарат тимуса // Здравоохранение (Кишинев).-1989.- С. 20-23.

507. Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека / Пер. с англ. - М.: Мир, 1996. - 641 с.
508. Шмутер Л.М. Влияние острого и хронического отравления дихлорэтаном на количество антителообразующих клеток и плазмоцитарную реакцию селезенки крыс при иммунизации О-антигеном Sal. Typhi // Фармакол. и токсикол. – 1976. - №1. – С. 104-108.
509. Шмутер Л.М. Влияние хронического воздействия низких концентраций хлорированных углеводородов ряда этана на специфическую и неспецифическую резистентность животных in vitro // Гиг. труда и проф. заболевания. – 1977. - №8. – С.38-42.
510. Штенберг А.И., Джунусова Р.М. Угнетение иммунологической реактивности организма животных под влиянием некотрых ФО пестицидов //Бюл. эксперим. биол.-1968.-№3.-С. 86-88.
511. Шубик В.М. Проблемы экологической иммунологии. Л., Медицина.- 1976. – 240 с.
512. Шуршалина А.В., Верясов В.Н., Сухих Г.Т. Соотношение уровней цитокинов при генитальном герпесе в различные фазы инфекционного процесса // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.132, №7. – С. 59-61.
513. Шустов В. Я., Довжанский И. С. Анализ адаптивных реакций у рабочих в условиях производства химических волокон //Гигиена труда и проф. заболев.- 1987.-№6 – С. 18-21.
514. Шустов В.Я., Маврина Е.А. К клинике хронической интоксикации в производстве нитрона //Гигиена труда –1975.-№3.- С.18-21.
515. Шустов В.Я., Ольховская А. Г., Кузнецов П. П., Ильина В. А. Ранняя диагностика и профилактика интоксикаций в производстве вискозного корда, капрона, натрона.- Саратов, 1985. – 114 с.
516. Щеглова М.Ю., Макарова Г.А. Клиническая эффективность применения иммунофана у больных бронхиальной астмой // Inter. J. Immunorehabilitation. Физиология и патология иммунной системы. – 2003.- Т. 5, №2.- с. 222.
517. Щербаков А.А., Любунь Е.В., Кузнецов П.Е., Костерин П.В. Трансформация люизита в объектах окружающей среды. - Саратов, Научная книга, 2002. - 80 с.
518. Юрина Н. А., Тамахина А. Д. Действие кортикостероидов на аргофильные премедуллярные клетки тимуса // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1996. -№10. –С. 461-464.
519. Юшков В.В., Хавинсон В.Х. Выявление и анализ противовоспалительной активности иммуномодуляторов//Патол. физиол. и эксперим. терапия.-1993.-№ 2.-С. 11-13.
520. Ягмуров О. Д., Огурцов О. П. Функциональная активность лимфоцитов селезенки и периферической крови при стрессорной иммунодепрессии // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1996.-Т 122.-№7. –С. 64-68.
521. Яковлев Г.М., Новиков В.С., Хавинсон В.Х. // Резистентность, стресс, регуляция. Л., Наука, 1990.-237 с.
522. Яковлев Г.М., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Современные представления о цитомединах и проблемы биорегулирующей терапии // Воен.-мед. журн. – 1987.- № 6. –С.37-40.
523. Яковлев Г.М., Новиков В.С., Хавинсон В.Х.//Резистентность, стресс, регуляция. Л., Наука, 1990.-237 с.
524. Якушева Е.Н. Баланс электролитов и катехоламинов в ткани кровеносных сосудов при экспериментальном токсическом гепатите и его фармакотерапии // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1994. - №5. – С. 27-29.
525. Яновский О.Г., Захарова Л.А. Влияние миелопида на антителообразование в

индуктивную фазу иммуногенеза // Иммунология. - 1990. - № 1. - С. 70.
526. Abbas A.K., Murphy K.M., Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes // Nature. – 1996. – Vol. 383. – P. 787–793.
527. Ademuyiva O., Adesanya O., Ainwon O.R. Vitamin C in CCl4 hepatotoxicity // Hum. and Exp. Toxicol.-1994.-Vol. 13, N 2.-P. 107-109.
528. Ahlbborg U.G. Risk assessment of PCDDs and PCDFs in the mordic countries //Toxic subst. J.-1992.-Vol. 12, N 2-4.-P. 191-196.
529. Ahmed A. E., Farooqui M. Y. H., Upreti R. K., El-Shabrawy O. Distribution and covalent interactions of (1-^{14}C) acrylonitrile in the rat //Toxycology.- 1982.- N 23. - P. 159-175.
530. Ahmed A. E., Patel K. Acrylonitrile – in vivo metabolism in rat and mice //Drug. Metab. Disposition.- 1981.- Vol. 9, N 3. - P. 219-222.
531. Ali M.V., Nolan J.P. Alcogol unduced depression of reticuloendothelial function in the rat //J. Lab. Clin. Med.-1967.- Vol. 70, N 2.-P. 295-300.
532. Allen A. L., Koller L. D., Pollock I. A. Effecf of foxaphene exposure on immune responses in mice //J. Toxicol and Environ. Health.-1983.-Vol. 11, N 1.-P. 61-69.
533. American Cyanamid Company. Handing storage - analyses acrylonitrile. Wayne, New Jersey, 1974.- 42 p.
534. Amitai G., Adani R., Fishbein E. et al. Bifunctional compounds eliciting anti-inflammatory and anti-cholinesterase activity as potential treatment of nerve and blister chemical agents poisoning // J.Appl.Toxicol. –2006 – Vol. 26.-N 1. –P.81-87.
535. Andrian U.H., Mackay C.R. T-Cell function and migration. Two sides of the same coin // New Eng. J. Med. – 2000. – Vol. 343, N 5. – P. 1020-1034.
536. Appel K. E., Peter H., Bolt M., Bolt H. M. Interaction acrylonitrile with hepatic microsomes of rats and man //Toxycol. Leet. - 1981.- Vol. 7. - P. 355-340.
537. Argyris B.F.//Role of macrophages in antibody production. Immune respons to sheep red blood cells //Immunol.- 1967.- Vol. 99, N 4. – P. 744-750.
538. Arroyo C.M., Burman D.L., Kahler D.L. et al. TNF-alpha expression patterns as potential molecular biomarker for human skin cells exposed to vesicant chemical warfare agents: sulfur mustard (HD) and Lewisite (L) // Cell Biol. Toxicol. – 2004. – Vol.20, N 6. –P. 345-359.
539. Ashton J.F., Laura R.S. The cadmium problem //Search.-1992.-Vol. 23, N 1.-P. 31-33.
540. Audre F., Gillon., Lafout S., Yourdan G. Pesticide-containing diets augments in anti-sheep red blood cell non reaginic antibody responses in mice but viay prolong murine infection with Giardia muris //Environ. Res.-1983.-Vol. 32, N 1.-P. 145-150.
541. Ayala A., Chaudry I.H. Dietary n-3 polyinsaturated fatty acid modulation of immune cell function before or after trauma // Nutrition.- 1995.- Vol. 11, N 1.-P.1-11.
542. Bacer R.A. Theshold odors of organic chemicals // J. Am. Water Works Assoc.- 1963.- Vol. 55.- P. 913-916.
543. Bagiuski B. Einflub von Blei und Cadmium anf die Vitalitat und Phagozytosefahigkeit humaner polymorphkerniger Zenkoryten //Zbl. Bakteriol.-1985.-Bd. 181, N 6.-S. 461-468.
544. Balali-Moode M., Hefazi M. Mahmoudi M. et at. Long-term complications of sulphur mustard poisoning in severely intoxicated Iranian veterans // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2005 – Vol. 19.-N 6. –P. 713-721.
545. Barsoum G.S., Saad K. Relative toxicity if certain chlorine derivatives of the aliphatic series // Q. J. Pharm. Pharmacol. – 1934. – Vol. 7, N 2. – P. 205-214.
546. Bartus R., Moszczynski P, Lisiewicz J., Bem S. Stezenie immunoglobulin surowiczycw u osob narazonych rozny czas na palyrteci //Wiad. lek.-1988.-41, N 12.- P. 778-789.

547. Bautista A. P. Acute alcohol intoxication and endotoxemia desensitize HIV-1 gp120-induced CC-chemokine production by Kupffer cells // Life Sci. -2001. - Vol. 68, N 4.- P. 1939–1949.
548. Becker E.L., Unanue E.R. The requirement for esterase activation in the anti-immunoglobulin-triggered movement of B lymphocytes //J.Immunol.-1976.-Vol. 117, N 1.-P. 27-32.
549. Becker E.L., Ward P.A. Partia 1. Biochemical characterization of the activated esterase required in the complement-dependent chemotaxis of rabbit polymorphonuclear leucocytes //J.Exp.Med.-1967.-Vol.125, N 6.-P. 1021-1030.
550. Becker E.Z. Concerning the mechanism of complement activity by di-isopropilfluorophosphate. //J. Immunol.-1956.-Vol. 77, N 6.-P. 462-468.
551. Becker E.Z., Austen K.F. A comparison the specificity of inhibbition by phosphonate esters of the first component of complement and the antigen-induced release of histamine from guinea pig lung. //J. Exp. Med.-1964.-Vol. 120, N 4.-P. 491-506.
552. Becker E.Z., Austen K.F. Mechanisms of immunologic injury of rat peritoneal mast cells. I. The effect of phosponate inhibitors on the homocytotropic component of rat complement. // J. exp. med.-1966.-Vol. 124, N 3.-P. 379-395.
553. Becker E.Z., Phosphonate inhibition of the accumulation and retention of K+ by rabbit neutrophils in relation to chemotaxis //J. Immunol.-1971.-Vol. 106, N 3.-P. 689-697.
554. Bergeret A., Pouget E., Tedone R., et al. Neutrophil functions in lead-exposed workers //Hum. and Exp. Toxicol. [Hup. Toxicol.].-1990.-Vol. 9, N 4.-P. 231-233.
555. Bermudez L. E., Wu M., Martinelli J., Young L. S. Ethanol affects release of TNF and GM-CSF and membrane expression of TNF receptors by human macrophages // Lymphokine Cytokine Res. – 1991. - Vol. 10, N 2.- P. 413–419.
556. Bermudez L. E., Young L. S. Ethanol augments intracellular survival of Mycobacterium avium complex and impairs macrophage responses to cytokines //J. Infect. Dis. –1991. - Vol.163, N 7.- P. 1286–1292.
557. Bishayee A., Chatterjee M. Carrot aqueous extract protectijn against hepatic oxidative stress and lipid peroxidation induced by acute carbon tetrachloride intoxication in mice //Fitoterapia.-1993.-Vol. 64, N 3.-P. 261-265.
558. Bjornson A., Bjornson S. Serum-mediated inhibition of polymorphonuclear leucocyte function following burn injury // Ann. Surg. 1981. Vol. 194, N 5. P. 568-575.
559. Blackley B.R., Sisodia C.S., Mukkur T.K. The effect of methylmercury, tetraethyllead and sodium arsenite on the humoral immune response in mice //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1980.-Vol. 52, N 1.- P. 245-250.
560. Blanton R. H., Myers M. J., Bick P. H. Definition of the cellular fargets of benzo-(A)-pyrene immunotoxicity //Toxicologist.-1986.-Vol. 6, N 1.-P. 166
561. Bleavins M. R., Aulerich R. J. Immunotoxicolodic effects of polychlorinated biphenyls on the cell-mediuted and humoral immune systems //Residue Rev.-Vol. 90, New York e.a.-1983.-P. 57-67.
562. Boman H.G. Peptid antibiotics and their role in innate immunity // Ann. Rev. Immunol.-1995.- Vol. 13.-P. 61-92.
563. Bonnet P., Francin J.-M., Gradiski D. et al. Determination dela concentration lethale 50 des principaux hydrocarbures aliphatigues chlores chez le rat // Arch. Mal. Prof. Med. Trav. Secur. Soc. – 1980. – Vol. 41, N 1. – P. 317-321.
564. Borelka B.E., Salvaggio J.E. Immunomodulation by enviromental centaminants: asbestos, cadmium, and halogenated biphenyls //J. Environ. Sci. and Health.-1985.-Vol. 3, N 1.-P. 1-62.
565. Borella P., Manni S., Giardino A. Cadmium, nickel, chromium and lead accumulate in human lymphocytes and interfere with PHA-induced proliferation //J. Trace Elem. and

Electrolytes Health and Diseases.- 1990.-Vol. 4, N 2.-P. 87-95 .
566. Brieger H., Rieders F., Hodes A. B. Acrylonitrile: spectrophotometric determination, acute toxicity, and mechanism of action //Ind. Hyg. occup. Med.- 1952.- Vol. 6. - P. 128-140.
567. Brzezinski J. // The effect of poisoning with phosporus organic insecticides on the catecholamine level in rat plasma, brain and adrenals // Diss. pharm.et pharmacol. PAN. – 1972.-Vol. 24, N 2.- P. 217-220.
568. Burns L. A., Butterworth L. F., Munson A.R. Reversal of gallium arsenide-induced suppression of the antibody response by a mixed disulfide metabolite of meso-2,3-dimercaptosuccinic acid //J. Pharmacol. and Exp. Ther.-1993.-Vol. 264, N 2.-P. 695-700.
569. Burns L.A., Sikorski E.E., Saady J.J., Munson A.E. Evidence for arsenic as the immunosuppressive component of gallium arsenide //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1991.-Vol. 110, N 1.-P. 157-169.
570. Cainer I.H., Pry T.W. Effects of arsenical on viral infections in mice //Amer. J. Vet. Res.-1972.-Vol. 33, N 3.-P. 2299-2303.
571. Carson E.J., Pruett S.B. Development and charactesization of a binge drinking model in mice for evaluation of the immunological effects of ethanol //Alcoholism.-1996.-Vol. 20, N 1.-P. 132-138.
572. Casale G.P., Cohen S.D., DiCapva R.A. Parathion of humoral immunity in inbred mice //Toxicol. Lett.-1984.-Vol. 23, N 2.-P. 239-247.
573. Casale G.P., Cohen S.D., DiCapva. R.A. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice // Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1983.-Vol. 68, N 2.-P. 198-205.
574. Cerra F. Hypermetabolism, organ failure and metabolic suppot // Sugery.-1987.-Vol.101, N 1. – P. 1-14.
575. Charbonuean S.M., Spenser K., Bryce F., Santi E. Arsenik excretion by monkeys dosed with Arsenic – containing fish or with inorganic arsenik // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 1978. – Vol. 20. – P 470-477.
576. Chen G. J., D. S. Huang D. S., B. Watzl B., R. R. Watson R. R.. Ethanolmodulation of tumor necrosis factor and gamma interferon production by murine splenocytes and macrophages // Life Sci. – 1993. - Vol. 52, N 3.- P. 1319–1326.
577. Chou S.Y., Richardson K.E. The effect of pyrasole jn ethylen glycol toxicy and metabolism in the rat // Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1978.-Vol. 43, N 1.-P. 33-44.
578. Cifone M.G., Alesse E., Di E.R. et al. In vivo cadmium treatment alters natural killer activity and large granular lumphocyte number in the rat //Immunopharmacology.-1989.-Vol. 18, N 3.-P. 149-156.
579. Cifone M.G., Procopio A., Napolitano T. et al. Cadmium inhibits spontaneous (NK), antibody-mediated (ADCC) and IL-2-stimulated cytotoxic sunctions of natural killer cells //Immunopharmacology.-1990.-Vol. 20, N 2.-P. 73-80.
580. Claman H.N. Corticosteroids as immunomodulators //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 288-292.
581. Clark G.C., Blank J.A., Germolec D.R., Luster Michael I. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin stimulation of tyrosine phosphorylation in B lymphocytes: potential role in immunosuppression //Mol. Pharmacol.-1991.-Vol. 39, N 4.-P. 495-501.
582. Claman H. N. Corticosteroids and lymphoid cells // New Engl. J. Med.-1972.-Vol.287.-N 8.- P. 388-397.
583. Coffey R. G., Hadden J. W. // Neurotransmitters, hormones and cyclic nucleotides in lymphocyte regulation Red. Proc.-1985.-Vol. 44, N 1.-P. 112-117.
584. Cook J.A., Marconi E.A., Piluzio N.R. Lead, cadmium, endotoxin interaction: effect on mortality and hepatic function //Toxicol. Appl. Pharmacol.- 1974.- Vol. 28, N 2.-P.

292-302.
585. Cook J.C., Dold K.M., Greenlee W.F. Evidence that human thymic epithelial (HuTE) cells are a target for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). //Toxicologist.-1986.-Vol. 6, N 1.-P. 172.
586. Costa L. G., Kaylor G., Murphy S.D. In vitro and in vivo modulation of cholinergic muscarinic receptors in rat lymphocytes and brain by cholinergic agents // Int. J. Immunofarmacol.- 1990.-Vol. 12, N 1.-P. 67-75.
587. Csermely P., Somogyi J. As a possible mediator of signal transduction in T lymphocytes //Acta physiol. Hung.-1989. -Vol. 74, N 2.-P. 195-199 .
588. Daniel F., Robinson M., Olson G. et al. Ten and ninety-day toxicity studies of 1,2-dichloroethane in Sprague-Daw leg rats // Drag and Chem. Toxicol. – 1994. – Vol. 17, N 4. – P. 463-477.
589. Dawson S. W., Ledgerwood A. M., Rosenberg J. C., Lucas C. E. Angery and altered lymphocyte function in the injured patients // Amer. Surg. -1982. -Vol. 48, N 8. -P 397-401.
590. Delves P.J., Roitt I.M. The immune system (Part 1) // N. Engl. J. Med. - 2000. – Vol. 343, N2. – P. 37-49.
591. Denning D. W., Webster A., David B. Detrimental effect of propylene glycol on natural killer cell and neutrophil function //J. Pharm. and Pharmacol.-1987.-Vol. 39, N 3.-P. 236-238.
592. Descotes J. Immunotoxicology of drugs and chemicals. – Amsterdam- -N. Y-. Oxford: Elsiver, 1986.- 400 p.
593. Descotes J., Evreux Y.Cl., Laschi-Loquerie A., Tachon P. Comparative effects of various lead salts on delayed hypersensitivity in mice //J. Appl. Toxcicol.-1984.-Vol. 4, N 3.-P. 265-269.
594. Descotes J., Mazue G. Immunotoxicology // Adv. Vet. Sci. Comp. Med. –1987.- Vol. 31.-P. 95-119.
595. Desi I., Palotas M., Vetro G. et al. Biological monitoring and health surveillance of a group of greenhouse pesticide sprayers //Toxicol.Lett.-1986.-Vol. 33, N 153.-P. 91-105.
596. Desi I., Varga L. Immuntoxikologische Un tersuchungen der Pestizide von hygienischen Standpunkt //Zbl. Pharm. Pharmakotherap. und Laboratoriumsdiagn.-1983.-Vol. 122, N 2 (22 Jahrestag Yes. Pharmakol. und Toxicol. DDR, Neubrandenburg, 2-4, Sept., 1982), P. 154-155.
597. Desi I., Varga L., Farkas I. The effect of DDVP, on organophosphorus pesticide on the humoral and cell-mediated immunity of rabbits /Further studies in the assessment of toxic action //Arch. Toxicol.-1980.-Suppl. 4.-P. 171-174.
598. Devens B.H., Grayson H.M, Imammura T., Rodgers K.E. O,O,S-trimethyl phosphorothionate effects on immunocompetense //Pestic. Biochem. and Phisiol.-1985.-Vol. 24, N 2.- P. 251-259.
599. Dhabhar F. S., Miller A. H., Mc Even B. S., Spenser R. L. Stress –induced in blood leukocyte distribution: A role of adrenal steroid hormones // J. Immunol.-1996. – Vol.157.- N 4.- P. 1638-1644.
600. Dieter M.P., Jameson C.W., Tucker A.N. et al. Immunotoxic effects of of nickel sulfate in mice //Toxicologist.-1986.-Vol.6, N 1.-P. 263.
601. Domianjanovic M., Vidakovic et al., Fhjstolski S. et al. The influence of acethycholinne upon lymphocyte activation // Acta biol. iugosl. C.-1989.- Vol. 25, N 3.-P. 238-243.
602. Dooley R.K., Holsapple M.P. Elucidation of cellular targets responsible for tetrachloridibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced suppression of antibody responses. I. The role of the B limphocyte //Immunopharmacology.-1988.-Vol. 16, N 3.-P. 167-180.

603. Dooley R.K., Morris D.L.., Holsapple M.P. Elucidation of cellular targets responsible for tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)-induced suppression of antibody responses. II. The role of the T-lymphocyte //Immunopharmacology.-1990.-Vol. 19, N 1.-P. 47-58.
604. Dorndorf W. Dichloroethane poisoning with myoclinic syndrome, epileptic attacks and irreversible cerebral effects // Arch. Psychiatr. Nervenkr. – 1975. – Vol. 220, N 3. – P. 373-379.
605. Dresser D.W., Wortis H.H., Use of antiglobulin serum to detect cells producing antibode with low hemolytic efficiency // Nature. –1965.- Vol.208.- P.859-861.
606. Dubowy M., Lutkes S., Barthel-Oelze H. et al. Indications for a modulatory effect of lead on immune mechanisms //Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.-1989.- N 340, Suppl.-P. 69.
607. Dulis B.H., Gordon M.A., Wilson J.B. Identification of muscarinic binding sites in human neutrophilis by direct binding //Molec. Pharmacol.-1979.-Vol. 15, N 1.-P. 28-34.
608. Durant S. In vivo effects of catecholamines and glucocorticoids on mouse thymic cAMP content and thymolysis// Cell Immunol. -1986.-Vol. 102, N 1. -P. 136-143.
609. Dwivedi P. D., Mishra A., Gupta G. S. D. et al. Inhalation toxicity studies of methyl isocyanate (MIC) in rats. Part IV. Immunolodic response of rats one week after exposure: effect on boby and organ weights, phagocytic and DTH response //Indian J. Exp. Biol.-1988.-Vol. 26, N 3.-P. 191-194.
610. Effetti della diossina sulla popolazione di Seveso //Chim. e ind. (Ital.)-1992.-Vol. 74, N 10.-P. 709.
611. Ellman G.M., Countney K.D., Anders V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // Biochem. Pharm. -1961.- Vol. 7, N 1. – P. 88.
612. Ellmeier W., Sawada S., Littman D.R. The regulation of CD4 and CD8 coreceptor gene expression during T cell development // Ann. Rev. Immunol. – 1999. – Vol. 17, N 3.- P. 523-554.
613. Elsbach P., Weise J. Oxygendependent and oxygenindependent mechanisme of microbiological activity of neutrophilis // Immunol.- Leet. - 1985.- Vol. 11.- N 3-4. - P. 159-163.
614. Elsisi A.E., Earnest D., Sipes I.G. Vitamin A potentiates the hepatotoxicity of carbon tetrachloride and allyl alcohol //Toxicologist.-1986.-Vol. 6, N 1.-P. 111-118.
615. Erzsebet F., Magdolna K. Policirlikus szenhidrogenik hatasa a makrofagok funkcioira //Egeszegtudomany.-1976.-Vol. 20.-N 1.-P. 84-93.
616. Esser C., Lai Z., Kremer J. Interferense of dioxins with thymocyte development and T-cell function: [Abstr.] Pap. Ist. Int. Congr. Environ. Med., Duisburg, Febr. 23-26, 1994 //Zentralbe. Hyg. und Umweltmed.-1994.-Vol. 195, N 3.-P. 226-227.
617. Ewald S.J., Shao H. Ethanol increases apoptotic cell death ofthymocytes *in vitro.* Alcohol Clin. Exp. Res. - 1993.- Vol. 17, N 3.-P. 359–365.
618. Faith R.E., Moore I.A. Impairment of thymus dependent immune function by exposure of the developping immune system by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin //G. Toxicol. Environ. -1977.-Vol. 3, N 1.-P. 451-456.
619. Farroogui M. J. H. Comparative toxicities of aliphatic nitriles //Ahmed toxicies E. Toxycol. Leet. - 1982.- Vol. 12.- N 2-3. - P. 157-163.
620. Fergula J., Ashercon G. L., Becker E. L. The effect of organophosphorus inhibitors, p-nitrophenol and cytocholasin-B on cytotoxic killing of tumor cells and the effect of shaking //Immunol. - 1972.- Vol. 23.- N 4. - P. 577 - 590.
621. Ferry F., Donner M. In vitro modulation of murine natural killer cytotoxicity by zinc //Scand. J. Immunol.-1984.-Vol. 19, N 5.-P. 435-445.
622. Ficek W. Changes in biological processes in lymphatic cells and tissues after loading with by glycocorticoids //Bioche. Arch.- 1997.- Vol. 13.- No 1. - P. 1 – 6.

623. Fink P.J., Bevan M.J. Positive selection of thymocytes // Adv. Immunol. – 1995. - Vol. 59- N 5. - P. 99 – 133.
624. Fleisher T.A., Oliveira J.B. Functional and molecular evaluation of lymphocytes // J. Allergy Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 114, N 4. – P. 227-234.
625. Foureman G.L., Reed D.J. Evidense for a non-episulfonium ion intermediate during alkylation by S-(2-chloroethyl) cysteine but not by S-(2-chloroethyl) glutatione // Fed. Proc. Fed. Am. Exp. Biol. – 1985. – Vol. 44, N 4. – P. 517.
626. Frankenberg L. Enzyme therapy in cyanide poisoning: effect on rhodanese and sulfur compounds //Arch. Toxicol.- 1980.- N 40. - P. 315-323.
627. Freeman J. J., Hayes E. P. Acetone potentiation of acute acetonitrile toxicies rats //Toxycal and Environ Health. - 1985.- Vol. 15, N 5. - P. 609-621.
628. Freeman J. J., Hayes E. P. Microsomal metabolism of acetonitrile of cyanide //Biochemical Pharmacol. - 1988.- Vol. 37, N 6. - P. 1153-1159.
629. Friedman H., Newton C., Klein T.W. Microbial Infections, Immunomodulation, and Drugs of Abuse // Clin. Microb. Rev. - 2003.- Vol. 16, N 2. - P. 209-219.
630. Fry D.E. Maltiple organ failure // Surg. Clin. Noth. Amer.-1988.- P. 107-122.
631. Fujimaki H. Comparison of the effect of cadmium on lymphocytes of young and adult mice //J. Environ. Pathol., Toxicol., and Oncol.-1987.-Vol. 7, N 4.-P. 39-45.
632. Fujimaki H. Supression of primary antibody response by a single exposure to cadmium in mice //Toxicol. lett.-1985.-Vol. 25, N 1.-P. 69-74.
633. Funseth E., Ilback N.G. Effects of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on blood and spleen natural killer (NK) cell activity in the mouse //Toxicol. lett.-1992.-Vol. 60, N 3.-P. 237-256.
634. Gabon P.A. et al. Organic acids in ethylen glicol intoxication// Annals of Internal Medicine.-1986.- .-Vol.105, N 1.- P. 16-20.
635. Gainer I.H. Increased mortaliry in encephalomyocarditis virus - infected mice consuming combalt sulfate: tissue concentrations of cobalt //Amer. J. Vet. Res.-1972.-Vol. 33, N 3.-P. 2067-2070.
636. Galante P., Ardreana A., Perna P. et al. Decreased phagocytic and bactericidal activity of the hepatic reticuloendothelial system during chronic ethanol treatment and its restoration by levamisole //J. Reticuloendoth. Soc.-1982.-Vol. 32, N 2.-P. 179-186.
637. Garoroy M.R., Strom T.B., Kaliner M., Carpenter C.B. Antibody-dependent lymphocyte mediated cytotoxicity mechanism and modulation by cyclic nucleotides //Cell. Immunol.-1975.-Vol. 20, N 2.-P. 197-204.
638. Gelfand J.A. How do complements components and fragments, affect cellular immunological functions? //J. Trauma. -1984. -Vol. 24, N 9. - P. 118-122.
639. Gennari M., Bouthillier Y., Ibanes O. M. et al. Effect of silica on the genetic regulation of antibody responsiveness //Ann. Inst. Pasteur. Immunol.-1987.-Vol. 138, N 3.-P. 359-370.
640. Ghanayem B. I., Ahmed A. E. In vivo biotrans formation and biliary excretion of 1 – ^{14}C acrylonitrile in rats //Arch. Toxicol.- 1982.- N 50. - P. 175-183.
641. Gilbert R.V., Hoffmann M.K. cAMF is essential signal in the induction of antibody production by B cells but inhibits helper function of T cells// J. Immunol.-1985.-Vol.135, N 3.-P.2084-2089.
642. Goldrath A.W., Bevan M.J. Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire // Nature. - 1999. – Vol. 402. – P. 255-262.
643. Good M.F., Chapman D., Halliday J.W., Powell L.W. The effect of iron, iron-proteins and experimental iron-overload on cellular immune function //Austral. and N.Z.J. Med.-1985.-Vol. 15, N 1.-P. 148.
644. Gordon M.A., Cohen J.J., Wilson I.B. Muscarinic cholintrgic receptors in murine

lymphosytes: demonstration by direct binding lymphocytes //Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1975.-Vol. 76, N 6.-P. 2902-2904.
645. Grabczewska E., Lascowska-Bozek H., Maslinski M., Ryzewski J. Receptory muskarinowe na limfocytach ludzkich stymulowanych fitohemaglutynina //Rreumatologia.-1990.-T. XXVIII, N 4.-P. 171-179.
646. Gradiski D., Bonnet P., Raoult G. et al. Toxicite auge comparee par ingalation des principaux sol vants aliphatiqes chlores // Arch. Mal. Prof. Med. Trav. Seccur. Soc. – 1978.- Vol. 39, N 2.-P. 249-251.
647. Graham J. P. D. Hydroxycobalamin as an antidote to acrylonitrile //Toxicol. appl. Phrmacol.- 1965.- N 7. - P. 367-372.
648. Grandmont M.J., Racine C., Roy A., Lemieux R. et al. Intravenous immunoglobulins induce the in vitro differentiation of human B lymphocytes and the secretion of IgG // Blood. – 2003. – Vol. – 101. – P. 3065-3073.
649. Guengerich F.P. Cytochrome P450: advances and prospects //FASEB Journal.-1992.-Vol. 6, N 2.-P. 667-668.
650. Guengerichh F. P., Geiger L. G., Hogy L. L., Wright P. L. In vivo metabolism of acrylonitrile to 2-cyanoethylene oxide reaction with glutatione, and irrever sible binding to proteins and nucleic acids //Cancer Res.- 1981.- N 41. - P. 4925-4933.
651. Gut I., Kopecky J., Nerudova J. Relationship between acrylonitrile biotransformation, pharmacokinetics, and acute toxicity. A short review //G. Ital. Med. Lav.- 1981.- N 3. - P. 131-136.
652. Gut I., Nerudova J., Kopecky J., Holechek V. Acrylonitrile biotransformation in rats, mice and chinese hamsters as influenced by the route of administration and by phenobarbital, SKF-525A, cysteine, dimercaprol, or thisulphate //Arch. Toxicol.- 1975.- N 33. - P. 151-161.
653. Halaskova M., Jirova D., Sperlirgova I. et al. Immunotoxic effects of carbonium tetrachloride-morphological and functional changes in mice: [Pap.] 34th Congr. Czechosl. Anatom. Soc., olomouc, Sept. 9-12, 1992 //Funct. and Dev. Morphol.-1993.-Vol. 3, N 1.-P. 37.
654. Hallengren B., Forsgren A. Effect of alcohol on chemotaxis adherence and phagocytosis of human polymorphonuclear leukocytes //Acta. Med. Scaud.-1978.-Vol. 204, N 1.-P. 43-48.
655. Hanton G., Pastoret P. P. La reaction de cytotoxicite a mediation cellulaire dependente des anticorpe // Ann. rech. Vet.- 1984.- Vol. 15, N 4. - P. 443-456.
656. Hart M. N., Fabry Zsuzsanna. CNS antigen presentation //Trends Neurosci. - 1995.-Vol. 18, N 11. - P. 475-481.
657. Hassig A., Wen-Xi L., Stampfli K. Stressinduzierte suppression der zellularen Immunreaktionen // Raum. Und Zeit.-1996.- Bd. 15, N 83. – S. 57-61.
658. Hattomer-Frey H.A., Travis C. C. Comparison of human exposure to dioxin from municipal waste incineration and background environmental contamination //Chemosphere.1989.-Vol. 18, N 4-6.-P. 643-649.
659. Hausmann S., Wucherpfennig K.W. Activation of autoreactive T cells by peptides from human pathogens // Curr. Opin. Immunol. 1997.- Vol. 9, N4.- P. 831-838.
660. Hayakawa K. Positive selection of natural autoreactive B cells // Science.- 1999. Vol. 285, N 3.- P. 113-116.
661. Heideman M., Bentgson A. Immunological interfence of high dose corticosteroids //Acta chir. scand.-1985.-Vol.151, N 526.-P. 48-55.
662. Henninghausen G., Lange P. A simple technique of testing for the influence of metal salts and other chemical on macrophages and thymocytes in vitro //Arch. Toxicol.-1980.-Vol. 4, N 1.-P. 143-147.

663. Henson P.M., Oades Z.G. Activation of platelets by platelet-activating factor (PAF) derived from IgE-sensitired basophils. II. The role of serine proteases, cyclic nucleotides, and contractile elements in PAF-induced secretion //J. Exp. Med.-1976.-Vol. 143, N 4.-P.953-968.
664. Hermanowicz A., Kossman S. Neutrophil function and infectious disease in workers occupationally expased to phosphoorganic pesticides: role of mononuclear-derived chemotactic factor for neutrophils //Clin. Immunol. and Immunopathol.-1984.-Vol. 33, N 1.-P. 13-22. 79.
665. Herzfeld A., Kuklinski B., Kohler H. Ergebnisse einer Selensupplementation bei Gesunden unter besonderer Berucksichtigung der Immunitat /Mengen - undd Spurenelem: Arbeitstag. Agrarwiss. und Chem. Ges., Jena, 19-20 Dez., 1989.-Zeipzig,1989.-S. 228-232.
666. Hewett J. A., Roth R. A. Dieldrin activates rat neutrophils in vitro //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1988.- Vol. 96, N 2.-P. 269-278.
667. Heyman B. Feedback regulation by IgG antibodies // Immunol. Lett. – 2003. – Vol. 88. – P. 157-161.
668. Hideaki K., Sham I. K., Yukio. et al. Экспериментальное изучение длительного влияния полихлорированных дибензфуранов на состояние органов дыхания и иммунной систем //Фукуока игаку дзасси, Fukuoka acta med.-1987.-Vol. 78, N 5.-P. 219-222.
669. Holsapple M.P., Mocay I.A., Barnesi P.W. Immunosuppression without liver induction by subchronic exposure to 2,7-Dichlorodibenzo-p-Dioxin in Adult Female B6C3F1 mice //Toxicology and applied Pharmacology.-1986-Vol. 83, N 3.-P. 445-455.
670. Hong R. Immunobiology of the Macrophage //Reticuloendothelial. Syst.: A compreheasive treatics.- New York.- London, 1984.- Vol. 6.- P. 1-11.
671. Hoshishima K., Ito M., Hyodo S. The trace dose of metatal(s) and the immunological reaction in mice //Nutr. Res., 1985, Suppl. N 1.- P. 740-744.
672. Houk Vernon N. The health effects of dioxin on humans //Qual. Assur.: Good Pract., Regul., and Law.-1992.-Vol. 1, N 2.-P. 97-103.
673. House R.V., Lauer L.D., Murray M.J. et al. Immunological studies in BGC3F mice following expsure toethylene glycol monoethyl ether and its principal metabolite methoxyacetic acid //Toxicol. Appl. Pharmacoi.-1985.-Vol. 77, N 3.-P. 358-367.
674. Husband A. I. The immune system and integrated homeostasis //Immunol. and Cell Biol.- 1995.- Vol. 73.- N 4. - P. 377-382.
675. Imamura T., Schiller N.Z., Fukuto T.R. Mulation and phenthotae carboxylesterase activi-ties in the pulmonary alvedar macrophages asindicatore of lung injurej //Toxicol. appl. Pharmacol.-1983-Vol. 70, N 2.-P. 140-147.
676. Inskeep P.B., Guengerich F.P. Glutation mediated binging of dibromoalkanes to DNA: specificity of rat glutathione s-transferases and dibromoalkane structure // Carinogesis. – 1984. – Vol. 5, N4. – P. 805-808.
677. Iokobsen D. Glikolat cauzed the acidosis in the ethylen glicol poisoning // Acta Med. Skand.- 1984.-Vol.216, N 3.- P. 409-416.
678. Jackson I. C., Bloch E. F., Jackson R. T., Chandler J. P., Kim I. L. Cyanide // J. Nat. Med. Assoc.- 1985.- Vol. 77, N 10. - P. 777-782.
679. Janik G. Kopp W.C. Levamisol-induced neopterin synthesis //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P.252-258.
680. Jaremin B. The level of some serum proteins and lymphocyte count in persons exposed to the action of lead during work //Bull. Jnst. Marit. and Trop. Med. Cdynia.-1983.-Vol. 34, N 3-4.-P. 181-188.
681. Jerne N. K., Nordin A. A. Plaque formation in agar by single antibody producing cells

//Sceince.- 1963.- Vol. 140, N 4. - P. 405.
682. Jerrells T. R., Sibley D. Effects of ethanol on cellular immunity to facultative intracellular bacteria // Alcohol Clin. Exp. Res. –1995. - Vol. 19, N 2. - P. 11-16.
683. Jeurissen A., Bossuyt X. T cell-dependent and -independent responses // J. Immunol. – 2004. – Vol. 172, N 5. – P. 2728-2729.
684. Jirova D. Immunotoxicity of selenium /6th Int. Trace Elem. Symp., Leipzig, 1989.- Vol. 3.-Jena, 1989.-P. 922-927.
685. Johnson K. W., Munson A. E., Holsapple M. P. The B lymphocyte as a target for dimethylnitrosamine-induced immunosuppression //Toxicologist.- 1986.-Vol. 6, N 1.-P. 16.
686. Jordan M., Holt G., Wigzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes.I. A large population of lymphocytes forming nonimun // J. Exp. Med.- 1972.-Vol.136, N 2. -P. 207-215.
687. Kaminski N.E., Stevens W.D. The role of metabolism in carbon tetrachloridemediated immunosuppression. In vitro studies //Toxicology.-1992.-Vol. 75, N 2.-P. 175-188.
688. Kaplan D.R. A novel mechanism of immunosuppression mediated by ethanol //Cell. Immunol.-1986.-Vol. 102, N 1.-P. 1-9.
689. Kerkvliet N.I., Bramer J.A. Cellular targets of dioxin-induced humoral immune suppression //Toxicologist.-1988. -Vol. 6, N 1.-P. 16.
690. Khaitov R.M. Vaccines based on synthetic polyions and peptiles // Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 788-802.
691. Kieffer F. Die Bedeutung von Mineralstoffen und Spurenelementen in der Immunologie //Dtsch. Z. Onkol. 1989.-Bd. 21, N 6.-S. 164-169.
692. Kimball E.S. Experimental modulatio of IL-1 production and cell surface molecule expression by levamisol //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P.259-268.
693. Kimber I. Chemical – Induced Hypersensitivity //In.: Exper. Immun.- Boca Raton, New York, London, Tokyo.- 1996.- P. 391-417.
694. Kimber I., Moore M. Mechanism and regulation of natural cytotoxiciti. Minireview on cancer research // Exp. Cell Biol.-1985.-Vol. 53, N 2.-P. 69-84.
695. Kini M.M.. Cooper J.R. Biochemistry of methanol poisoning // Biochem. J.-1962.- Vol. 82, N 1.-P. 164-168.
696. Klein J., Sato A. The HLA System. First of Two Parts // The New England Journal of Medicine. – 2000. – Vol. 343. – P. 702-709.
697. Klein J., Sato A. The HLA System. Second of Two Parts // The New England Journal of Medicine. – 2000. – Vol. 343. – P. 782-786.
698. Kochan I., Wagner S.K., Wasynczyk I. Effect of iron on antibacterial immunity in vaccinated mice //Infect. Immunity.-1984.-Vol. 43, N 2.-P. 543-548.
699. Koller L.D. Metals and the lung //Iancet, 1984.-N 8408.-P. 903-907.
700. Koller L. D. Immunotoxicology and risk assessment of drinking water contaminants //Trace Subst.Environ. Health. 21. Proc. Univ. Mo. 21 st. Annu. Conf., st. Louis, Mo, May 25-28, 1987.-Columbia, Mo.-1987.-P. 247-252.
701. Koller L.D., Brauner I.D. Decreased B-lymphocyte response after exposure to lead and cadmium //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1978.-Vol. 42, N 4.-P. 621-624.
702. Koller L.D., Exon J.H., Roan J.G. Immunological surveilance and toxicity in mice exposed to the organophosphate pesticide coptophos //Envir. Res.-1976.-Vol. 12, N 12.- P. 238.
703. Koller L.D., Exon Y.H., Arbogast B. Methylmercury: effect on serum enzymes and humoral antibody //J. Toxicol. Environ. Health.-1977.-Vol. 2, N 3.-P. 1115-1119.
704. Koller L.P., Exon I.H., Roan I.G. Antibody supression by cadmium //Areh. Environ.

Health.-1975.-Vol. 30, N 3.-P. 598-605.
705. Kolls J. K., Xie J., Lei D., Greenberg S., Summer W. R., Nelson S. Differential effects of *in vivo* ethanol on LPS-induced TNF and nitric oxide production in the lung // Am. J. Physiol.- 1995. - Vol. 268, N 5. - P. 991-998.
706. Kondo M., Kato H., Yoshikowa T., Sugino S. Immunomodulators and the complement system //Meth. and Find. Exp. and Clin. Pharmacol.-1986.-Vol., N 2.-P. 67-72.
707. Kopecky J. Development and methodology for assessment of urinary excretion of S-cyanoethylmercapturic acid in man //Final Report to the WHO Regional Office for Europe, ICP/RCE 903, - 1982.
708. Kopecky J., Gut I., Nerudova J., Zachardova D., Holechek V., Filip J. Acrylonitrile metabolism in the rat //Arch. Toxicol., Suppl. 4.- 1980.- P. 322-324.
709. Kossman S., Konieczny B., Panek E. Immunoelektroforogram oraz sterenie immunoglobulin G, A, M, W surowicy krwi procownikov zatrunionych przy produkcji pestycydow fosforoorganicznych //Med. pr. -1985.-Vol. 36, N 1.-P. 27-30.
710. Kracker S., Radbruch A. Immunoglobulin class switching: in vitro induction and analysis // Methods Mol. Biol. – 2004. – Vol. 271, N 4.- P. 149-159.
711. Krajnc E.L., Wester P.W., Loeber I.G. et al. Toxicity of Bis (tri-n-butyltin) oxide in the rat. I. Short-term effects on general parameters and on the endocrine and lymphoid systems //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1984.-Vol. 75, N 3.-P. 363-389.
712. Kramer A., Wenffen R., Schubel H., Kramer B. Einflub von Thiocyanat und Selenocyanat an die Antikorperbildung bien Meerschweiuchen unter Verwendung eines korpuskuloten Antigens //W·ss. Z. E. V. Azndt-Univ. Greifsuwald Med.- 1984.- Vol. 33, N 2. - P. 50-52.
713. Kuchars E.T. Sierakowski S.J. Влияние меди на активацию Т-клеток у человека //Ж. гигиены, эпидемиол. микробиол. и иммунол.-1988.-Т. 32, N 2.-С. 155-160.
714. Kullenkampff J., Janossy G., Greanes M.F. Acid esterase in human lymphoid cells and leukaemic blasts: a marker for T-lymphocytes //Brit. J. Haemat.-1977.-Vol. 36, N 2.-P. 231-240.
715. Kurz R., Pfeifer K. P. Veranderungen der zellularen und humoralen Immunitat in der postoperativen Phase // Z. Kinderchir. und Grenzgeb. -1980. -Bd 30, № 1. -S. 37-40.
716. Kutty K.M., Chandra R.K., Chandra S. Acethylcholinesterase in erytrocytes and lymphocytes: its contribution to cell membrane structure and function //Experientia. - 1976.- Vol. 32, N 3. - P. 289-291.
717. Lambrecht B.N., Prins J-B., Hoogsteden H.C. Lung dendritic cells and host immunity to infection // Eur. Respir. J. – 2001. – Vol. 18. – P. 692– 704.
718. Langworth S., Elinder C.-G., Sundqvist K.-G. Minor effects of low exposure to inorganic mercury on the human immune system //Scand. J. Work, Environ. and Health.- 1993.-Vol. 19, N 6.-P. 405-413.
719. Larsen H.J.S. Relations between selenium and immunity //Norw. J. Agr. Sci.-1993.- Suppl. N 11.-P. 105-119.
720. Lee T.P., Moscati R., Park B.H. Effects of pesticides on human leukocyte functions //Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.-1979.-Vol. 23, N 1.-P. 597-601.
721. Lenz D.E., Maxwell D.M., Korlovich I. et al. Protection against soman or VX poisoning by human butyrylcholinesterase in guinea pigs and cynomolgus monkeys .// Chem. Biol. Interact. - 2005.- Vol. 157-158. P.-158:205-210.
722. Li C. G., Lam R. W., Gam L. T. Esterases in human leucocytes //J. Histochem. Cytochem.- 1973.- Vol. 21, N 1. - P. 1-12.
723. Li Q., Kawada T. The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells // Cell. Mol. Immunol. – 2006.- Vol. 3, N 3. – P. 171-178.
724. Lilienfeld D.E. Arsenic, geographical isolates, environmental epidemiology, and

arteriosclerosis //Arteriosclerosis.-1988.-Vol. 8, N 5.-P. 449-451.
725. Lind H. Lysocym-Bestimmung. Sine Methods, die Aufschud uber makrophagen – Aktivitat gibt //Mta Journal.- 1985.- Vol. 7, N 7. - P. 322-324.
726. Loose L.D. Immunotoxicology-1985 //Year Immunol.- 1985-1986.-Vol. 2.-Basel e.a., 1986.-P. 365-370.
727. Loose L.D., Silkworth I.B., Simpson D.W. Influence of cadmium on the phagocytic and microbicidal activity of murine peritoneal macrophages, pulmonary alveolar macrophages and polymorphonuclear neutrophils //Infect. Immunity.-1978.-Vol. 22, N 2.-P. 378-381.
728. Lubet R.A., Brunda M.I., Taramelli D. et al. Induction of immunotoxicity by polycyclic hydrocarbons: Role of the Ah+ locus //Archives Toxicol.-1984.-Vol. 56, N 1.-P. 18-24.
729. Ludewig R. Principles of the generation of the application of toxicological data-examples from reseach and practice // In.: Top. Forensis and Anal. Toxicol. – Amsterdam et al.- 1984. –P. 69-79.
730. Lundberg K., Cronvik K.O., Dencker L. Suppression of the normal immune response by TCDD in mice //Pharmacol. and Toxicol.-1990.-Vol. 66, N 5.-P. 32.
731. Luster A. Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation // N. Engl. J. Med.-1998.- Vol. 338, N 3.- P. 436-445.
732. Luster M. J., Blank J. A., Dean J. H. Molecular and cellular basis of chemically induced immunotoxicity //Annu. Rev. Pharmacol. and Toxicol.-Vol. 27.-Palo Alto, Calif.-1987.-P. 23-49.
733. Luster M.L., Boorman G.F., Dean G.H. et al. Examination of bone marrow, immunologic parametes and host susceptibility following pre-and post-natal exposure to 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin //Int. J. Immunopharmacol.-1980.-Vol. 2, N 3.-P. 301-310.
734. Luster M.L., Clark G., Lawson L.D., Faithr E. Effects of brief in exposure to 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on mouse lymphocytes //G. Environ. Pathol. Toxicol.-1978.-Vol. 2, N 4.-P. 965-977.
735. MacManus J.P., Bounton A.L., Whitefield J.F. et al. Aceytlcholine-induced initiation of thymic lymphoblast DNA synthesis and proliferation //J. Cell. Physiol.-1975.- Vol. 85, N 2.-P. 321-330.
736. Madden K. S., Livnat S. Catecholamine action and immunologic reactivity // In: Psychoneuroimmunology, Second Edition.- academic Press, Inc.-1991.- 283-310.
737. Maekawa Y., Yasutomo K. Antigen-driven T-cell repertoire selection // Crit. Rev. Immunol. – 2005. – Vol. 25, N 5. – P. 59-74.
738. Marshak-Rothstein A., Fink P., Gridley T. et al. Properties and application of monoclonal antibodies directed against determinants of the Thy-1 locus // J.Immunol. -1979.-Vol.122.-P. 2491-2497.
739. Marx J.L. How killer cells kill their targets. //Science.-1986.-Vol. 231, N 4744.-P. 1367-1369.
740. Masini E., Fantozzi R., Conti A. et al. Mast cell heterogeneity in response to cholinergic stimulation //Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.-1985.-Vol. 77, N 1-2.-P. 184-185.
741. Maslinski W, Grabczewska E., Bartgai T. Rysewski J. Muscarinic antagonist binding to intact rat thymocytes // Acta chem. scand. -1990.-Vol. 44, N 2.-P. 147-151.
742. Maslinski W. Cholinergic receptors of lymphocytes //Brein. Behav. And Immunol. -1989.- Vol.3, N 1.- P. 1-14.
743. Maslinski W., Grabczewska E., Laskowska –Bozek H., Ruzewski H. Expression of muskarinic cholinergic receptors during T cell maturation in the thymus // Eur. J.

Immunol. -1987.-Vol. 17, N 7.-P. 1059-1053.
744. Maslinski W., Krystyniak K., Grabczewska E. et al. Muscarinic acetylcholine receptous of rat lymphocytes //Biochim. biophis. Acta.-1983.-Vol. 758, N 1.-P. 93-97.
745. Maslinski W., Laskowska –Bozek H., Ruzewski H. Nicotinic receptors of rat lymphocytes during adjuvant polyarsthritis // J. Neurosci. Res.-1992.- Vol.31, N 2.- P. 336-340.
746. Masten B.J., Lipscomb M.F. Comparison of lung dendritic cells and B cells in stimulating naïve antigen-specific T cells // J. Immunol. – 1999. - Vol. 162. – P. 1310–1317.
747. Masuda N. , Tahatsu M., Mjnnau Y/ Ozawa T. Sarin poisonning in Tohyo subway // Lancet.- 1995.- N8962.- P. 1446-1447.
748. Maurer T., Thomann N., Weinrieh E.G., Hess R. Predictive evaluation in animals of the contact allergenic potential of medically important substances //Comparison of different methods of cutaneous sensitization with "weak" allergens. //Contact Derm.-1979.-Vol. 5, N 3.-P. 1-7.
749. Mc Even Bruce S., Biron C. A., Brunson K. W., Bulloch K., Chambers W. H., Dhabhar F. S., Goldfarb R. N., Kitson R. P., Miller A. H., Spenser R. L., Wess J. M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions //Brain. Res. Rev.- 1997.- Vol. 23.- No 1 - 2. - P. 179-133.
750. Mc Grath J., Wong S. Immunotoxicology of inhalants and methods of evaluation //Inhal. Toxical.: Res. Meth., Appl., and Eval.-New York, Basel, 1987.- P. 255-291.
751. McCabe M.J, Maguire D., Nowak M. The effects of arsenic compounds on human and bovine lymphocyte mitogenesis in vitro //Environ. Res.-1983.-Vol. 31, N 2.-P. 323-331.
752. McCabe M.J., Lawrence D.A. The heavy metal lead exhibits B cell-stimulatory factor activity by enhancing B cell la expression and differentiation //J. Immunol.-1990.-Vol. 145, N 2.-P. 671-677.
753. McColister D.D., Hollingsworth R.L., Oyen F., Rowe V.K. Comparative inhalation toxicity of fumingant mixtures. Individual and joint effects of ethylene dichloride, carbon tetrachloride, and ethylene dibromide // Arch. Ind. Health. – 1956. – Vol. 13, N1. – P. 1-7.
754. McConkey D.J., Ovenius S. 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) hills glucocorticoidsensitive thymocytes in vivo //Biochem. and biophys. res. commun.-1989.-Vol. 160, N 3.-P. 1003-1008.
755. McManus J., Huebner K. M. Vesicants // Crit. Care Clin.- 2005. Vol. 21, N 4. –P. 707-718.
756. McMartin K.E., Amre J.J., Tephly T.R. Methanol poisoning in human subjects. Role of formic acid accumulation in metabolic acidosis// Amer.J. Med.-1980.- Vol. 68, N 3.-P. 414-416.
757. Meadows G. G., Blank S. E., Duncan D. D. // Influence of ethanol consumption on natural killer cell activity in mice.- 1989.- Vol. 13, N 4.-P. 476-479.
758. Menard L. Rola-Pleszczynski M. Nicotine induces T-suppressor cell: modulation by the nicotinic antagonist d-tubocurine and myastehenic serum// Clin. Immunol. And Immunopathol. .-1987.- Vol. 44, N 1.-P. 107-113.
759. Mikhailova A.A. Fonina L.A. Myelopeptides – immunoregulatopy cytokines produces by the bone marrow cells // Eur. Jed. Immunol. Soc.10th Meet., Edinburg, 10-12 Sept., 1990: Abstr.- Edinburg, 1990.- P.125.
760. Mikhova T., Yanel E., Tzvetanov Y., Balutzov M. The effect of immobilizatition stress on some hydrolytic enzymes of alveolar macrophagas in rats // Acta med. bulg.-1991.-Vol.18.- C. 99-105.
761. Miller K. Immunotoxicology //Clin. and Exp. Immunol.-1985.-Vol 61, N 2.-P. 219-

223.
762. Minich E., Fefer A. Biologocal, response modifiers: subcombite report //Nat. Cancer Inst. Monograf. – 1983.-Vol. 63. – P. 1-252.
763. Mokhlesi B., Leiken J. B., Murray P., Corbridge T.C. Adult toxicology in critical care. Part I: General approach to the intoxicated patient // CHEST.- 2003.- Vol. 123, N 2. - P. 577–592.
764. Mokhlesi B., Leiken J. B., Murray P., Corbridge T.C. Adult toxicology in critical care. Part I: Specific poisonings // CHEST.- 2003.- Vol. 123, N 3. - P. 897–922.
765. Moody-Corbert F., Brehm P. Acethylholine reduces rectification on thymus-derived macrophage cells in culture //Can. J. Phisiol. and Pharmacol.-1987.-Vol. 65, N 3.-P. 348-351.
766. Moor P., de, Osinski P., Deckx R. Steeno O. The specificity of fluorometric corticoid determination // Clin. Chim. acta.-1962.-Vol.7, N4.-P.475-480.
767. Moor P., de, Steeno O. Raskin M., Hendrikx A. Elnorometric determination of free plasma 11-hydrooxy corticosteroids in man // Acta endocrinol.-1976.-Vol.33, N2.-P.297-307.
768. Moore B.B., Moore T.A., Toews G.B. Role of T- and B-lymphocytes in pulmonary host defences // Eur. Respir. J. – 2000. – Vol. 218. – P. 846-856.
769. Morita H.,Yanagisava N., Nakajima T. Zarin poisoning in Matsumoto, Japan // Lancet.- N 8991.-1995.- P. 290-293.
770. Morland B., Morland I. Effects of longterm ethanol consumption on rat peritoneal macrophages //Acta. Pharmacol. Toxicol.-1982.-Vol. 50, N 4.-P. 221-227.
771. Morris D.L., Holsapple M.P. Effects 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on humoral immunity. II. B cell activation //Immunopharmacology.-1991.-Vol. 21, N 3.-P. 171-182.
772. Moszczynsky P., Lisiewicz J. Occupational exposure to benzene, toluene and xylene and the T-lymphocyte functions //Haematologia.-1984.-Vol. 17, N 4.-P. 449-453.
773. Muller S., Gillert K.E., Krause C. et al. Effects of cadmium on the immune system //Experientia.-1979.-Vol. 35, N 7.-P. 909-910.
774. Munro N.B., Watson A.P., Ambrose K.R., Griffin G.D. Treating exposure to chemical warfare agents: implications for health care providens and community emergency planning // Environmental Health Perspectives. - 1990. - Vol. 89. –P. 205-215.
775. Munster A. M. Surgical immunology.- New York: Grune Stratton, 1976. -327 p.
776. Myers M.I., Schook Z.B., Bick P.H. Mechanisms of Benzo(a)pyreneinduced modulation of antigen Presentation //The journal of pharmacology and exp. Ther.-1987.-Vol. 242, N 2.-P. 399-404.
777. Nebert D.W., Eisen H.J., Hankinson O. The Ah receptor: binding specificity only for foreign chemicals //Biochem. Pharmacol.-1984.-Vol. 33, N 6.-P. 917-924.
778. Nelson S., Bagby G., Summer W. R. Alcohol suppresses lipopolysaccharideinduced tumor necrosis factor activity in serum and lung // Life Sci. -1989. - Vol. 44, N 2. - P. 673-676.
779. Nerudova J., Gut I., Kopecky J. Cyanide effect in acute acrylonitrile poisoinning in mice // Industrial and environmental xenobioties.- Berlin: Springer Verlag, 1981.- P. 245-250.
780. Nerudova J., Kopecky J., Gut I., Holechek V. Metabolism of acrylonitrile in the rats in vitro //Prakt. Lek.- 1980.- N 32.- P. 98-103.
781. Neubert D. Evaluation of toxicity of TCCD in animals as a basis for human risk assess-ment //Toxic Subst. G.-1992.-Vol. 12, N 2-4.-P. 237-276.
782. Neubert R., Helge H., Stahlmann R., Neubert D. Einige Wirkungen von to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TYCDD) undvon 2,3,7,8-Pentachlorodibenzofuran (P5CDF)

an periphere Lymphozyten von Primaten in vivo und vitro //Allergologie.-1991.-Vol. 14, N 9.-S. 360-371.
783. Newcombe D.S. Immune surveillance, organophosphorus exposure, and lymphomagenesis //Lancet.-1991.-N 8792.-P. 539-541.
784. Nilsen O. G., Tofgard R., Eneroth P. Effect of acrylonitrile on rat liver cytochrome P-450, benz(a)pyrene metabolism, and serum hormone levels //Toxical. Lett. - 1980.- N 6.- P. 399-404.
785. Nogueira N. Intracellular mechanisms of killing / Immunobiol. Parasit. and Parasitic. Infec. - New York-London, 1984.- P. 53-69.
786. Nordlind K., Henze A. Investigation of ability of the metal allergens cobalt chloride, nickel sulfate and potassium dichromate to give a mitogenic response in human thymocytes //Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.-1984.-Vol. 75, N 4.-P. 330-332.
787. Nouragargh S., Holt J.R.S. Ingibition of human neutrophil degranulation by forskolin in the presence phosfodiesters ingibitors// Eur. J. Pharmacol.- 1986.- Vol. 222, N 2.-P. 205-212.
788. Oschshorn-Adelson M., Bodner G., Toraker P. et al. Effects of ethanol on human natural killer cell activity: In vitro and acute, low-dose in vivo studies //Alcoholism.-1994.-Vol. 18, N 6.-P. 1361-1367.
789. Padget E.L., Barnes D.B., Pruett S.B. Desparate effects of representative dithiocarbamates on selected immunological parameters in vivo and cell survival in vitro in female B6C3F1 mice //J. Toxicol. and Environ. Health.-1992.-Vol. 37, N 4.-P. 559-571.
790. Park B. H. The use and limitations of the nitroblue tetrasolium test as a diagnostic aid // L. Pediatr.- 1971.- Vol. 72, N 2.- P. 375-378.
791. Parker DC. T cell dependent B cell activation // Annu. Rev. Immunol.- 1993.- Vol. 11, N 2.- P. 331-360.
792. Parry M.F., Wallach M.D. Ethylen glycol poisoning // Amer. J. Med.- 1974.- Vol.57, No 1.- P.143-150.
793. Parsons J. S., Mitzner S. Gas chromatographic method for concentration and analysis of traces of industrial organic pollutants in enveronmetal air and stacks //Environ. Sci. Technol. - 1975.- No 9.- P. 1053-1058.
794. Pelletier L., Pasquier R., Guettier C. et al. $HgCl_2$ induce T and B cells to proliferate and differentiate in BN rats //Clin. and Exp. Immunol.-1988.-Vol. 71, N 2.-P. 336-342.
795. Pestka J. J., Witt M. P. An overview of immune function //Technol.- 1985. - Vol. 39, N 2. - P. 83-90.
796. Peter H., Appel K. E., Berg R., Bolt H. M. Irreversible binding of acrylonitrile to nuclear acids //Xenobiotica. - 1983. - Vol. 13, N 1. - P. 19-25.
797. Petersen B.K. Beyer J.M. Charakterization of the in vitro effects of glucocorticosteroids on NK cell activity // Allergy.-1986.- Vol.41, N 3. -P. 220-224.
798. Pfeifer C., Murrey J., Madri J., Bottomly K. Selective activation of Th1- and Th2-like cells in vivo: Response to human collagen IV // Immunol. Rev. –1991.- Vol. 123, N 2. - P. 65-84.
799. Politt F.D. United kingdom approach to risk assessmennt of PCDDs and PCDFs //Toxic subst. J.-1992.-Vol. 12, N 2-4.-S. 360-371.
800. Poplak D. G., Cole D. E., Srinivasan U. Monocyte - mediated antibody dependent cellular cytotoxicity //Reticuloendothelia Syst.: A comprehensive treatis, New York, London.- 1984. - Vol. 6. - P. 303-318.
801. Purchase J. F. H., Farrar D. G., Whitaker J. A. Acetonitrile //A. T. L. A. - 1987. - Vol. 14, N 3. - P. 192.
802. Quast J. F., Enriquez R. M., Wade C. E., Humiston C. C., Schwetz B. A. Toxicity and

drinking water containing acrylonitrile in rats: results after 12 months //Midland MI, USA, Dow Toxicology Research Laboratory (prepared for the Manuf. Chem. Assoc.), 1977.

803. Quliroz L., Oliveina L. Immunologic phagocytosis by macrophages: effect of cholinergic drugs and cyclic GMP //Rev. brasil. pes quesis med. biol.-1975.-Vol. 8, N 2.-P. 119-123.

804. Rannug U. Genotoxic effects of 1,2-dibromoethane and 1,2-dichloroethane // Mutat. Res. – 1980. – Vol. 76, N 2. – P. 269-295.

805. Reljic R., Di Sano C., Crawford C. et al Time course of mycobacterial infection of dendritic cells in the lungs of intranasally infected mice // Tuberculosis (Edinb). – 2005. – Vol. 85. – P. 81-88.

806. Resteksamorzija N., Turk R., Momcilovic B. Lead induced renal inpairment: hypertension, anaemia and immunological changes: Absir. Int. congr. of clen. toxicol., 9-13 Sept., 1993, New York, NY., Hilton, Hotel //Vet. and Hum. Toxicol.-1993.-Vol. 35, N 4.-P. 354.

807. Reuhl K. R., Graff R.D., Bormann S., Brown D.L. Effects of methylmercury on lymphocyte microtubules //Toxicologist.-1986.-Vol. 6, N 1.-P. 51.

808. Rey A., Besedovsky H., Sorkin E. Endogenous blood levels of corticosterone control the immunologie cell mass and B cell activity in mice //J. Immunol. - 1984. - Vol. 133, N 2. - P. 572-575.

809. Rey A. del, Rogero E., Kabiersch A. et al. The role of noradrenergic nerves in the development of the lymphoproliferative disease in Fas-deficient, lpr/lpr mice // J. Immunol.- 2006. – Vol. 176, N 11. - P. 7079-7086.

810. Richman D.P., Arnason B.G.W. Nicotinic acetylcholine receptor: evidence for a functionally distinct receptor on human lymphocytes //Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1979.-Vol. 76, N 9.-P. 4632-4635.

811. Rinner I, Felsner P., Falus A. et al. Cholinergic signals to and from the immune system//Immunology Letters.-1995.-Vol. 44. -P. 217-220.

812. Rinner I, Schauenstein K. The parasympathic nervous system takes part in the immuno-neuroendocrine dialogue // J. of Neuroimmunollogy.-1991.-Vol. 34, N 2-3. -P. 165-172.

813. Rissoan M.C., Soumelis V., Kadowaki N. et al. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation // Science. – 1999. – Vol. 283. – P. 1183–1186.

814. Robert C., Kupper T.S. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance // The New England Journal of Medicine. – 1999. – Vol. 341. – P. 1817-1828.

815. Robinson C.J.G., Abraham A.A., Balacz T. Induction of antinuclear antibodies by mercuric chloride in mice //Clin. Exp. Immunol.-1984.-Vol. 58, N 2.-P. 300-306.

816. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Effects of subchronic treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothio ate on cellular and humoral immune response systems //Toxicol. and Appl, Pharmacol.-1985.-Vol. 81, N 2.-P. 310-318.

817. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Investigation into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. I. Characterization of the immune cell population affected //Immunopharmacology.-1985.-Vol. 10, N 3.-P. 171-180.

818. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethylphosphorothioate. II. Effect on the ability of murine macrophages to present antigen //Immunopharmacologe.-1985.-Vol. 10, N 3.-P. 181-189.

819. Rodgers K.E., Imamura T.,Devens B.H. Organophosphorus pesticide immunotoxicity: effects of O,O,S-trimethylphosphorothioate on cellular and humoral immune response

systems //Immunopharmacology.-1986.-Vol. 12, N 3.-P. 193-202.
820. Rodgers K.E., Leung N., Wae C.F. et al. Lack of acute and subacute administration of malathion on murine cellarar and humoral immune responses //Pestic. Biochem. and Physiol.-1986.-Vol. 25, N 3.-P. 358-365.
821. Rodgers K.E., Leung N., Imamura T., Devens D.H. Rapid in vitro screening assay for immunotoxic effects of organophorus and carbamate insecticides on the geueration of citotoxic T-lymphocyte responses. //Pestic. Biochem. And Physiol.-1986.-Vol. 26, N 3.-P. 292-301.
822. Rodgers K.E., Imamura T., Devens D.H. Investigatons into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethylphosphorothioate: generation of suppressive macrophages from treated animals //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1987.-Vol. 88, N 2.-P. 270-281.
823. Rodica G., Srefania M. Effects of some insecticides on the bursa of Fabricius in chicken //Arch. Exp. Vetetinarmed.-1973.-Vol. 27, N 4.-P. 723-728.
824. Roselle G.A., Mendenhall C.L. Alteration of the in vitro human lymphocyte function by ethanol, acetaldehyde and acetate //G. Clin. Lab. Immunol.-1982.-Vol. 9, N 3.-P. 33-39.
825. Rossi A.,Tria M.A., Baschieri S. et al. Cholinergic agonists selectively of inducen proliferative responses in the mature subpopulation of murine thymocytes in the mature subpopulation of murine thymocytes //J. Neurosci. Res.-1989.-Vol. 24, N 3.-P. 369-373.
826. Saad A. J., Domiati-Saad R., Jerrells T.R. Ethanol ingestion increases susceptibility of mice to *Listeria monocytogenes* // Alcohol Clin. Exp. Res. – 1993. - Vol. 17, N 1. - P. 75-85.
827. Saladi R.N., Smith E., Persaud A.N. Mustard: a potential agent of chemical warfare and terrorism // Clin. Exp. Dermatol. –2006 – Vol. 1.-N 6. –P. 1-5.
828. Sartorelli E. Acute acrylonitrile intoxication //Med. Lav. - 1966. - N 57. - P. 184-187.
829. Sato M., Hirasawa F., Ogata M., TakizawaG., Kojima H., Yoshida T. Distribution and accumulation of (2,3-^{14}C) acrylonitrile in rat after single injection //Ecotoxycol. environ. Safety.- 1982.- Vol.5, N 6. - P. 489-494.
830. Sauders V. M., White K. L., Shopp G. M. Munson A.E. Humoral and cell-mediated immune status of mice exposed to 1,1,2-trionloaethane //Drug and Chem. Toxicol.-1985.-Vol. 8, N 5.-P. 357-372.
831. Saxena A. K., Singh K. P., Nagle S. L. et al. Effect of exposure to toxic gas on the population of Bhopal. Part IV. Immunological and choromosomal studies //Indian J. Exp. Biol.-1988.-Vol. 26, N 3.-P. 173-176.
832. Schasteen C.S., Reed D.J. The hydrolysis and alkylation activities of S-(2-haloethyl)-L-cysteine analogues-evidence for extended half-life // Toxicol. Appl. Pharmacol. –1983.-Vol. 70, N 4. – P. 423-432.
833. Schrocder H.A. Recondite toxicity of trace elements //Essogs in toxicology /Eg. W.Y. Hages.-new York.-1973.-P. 420.
834. Segal A. W. Nitroblue – tetrasolium test //Lancet. - 1974.- N 7891. - P. 1248-1252.
835. Sejersted O.M. Methanol poisoning // Lancet. - 1981. - N 9765. - P. 1426-1431.
836. Sepulveda R.T., Jiang S., Besselsen D.G., Watson R.R. Alcohol consumption during murine acquired immunodeficiency syndrome accentuates heart pathology due to Coxsackievirus // Alcohol. - 2002. - Vol. 37, N 2. - P. 157-163.
837. Shahbazian L. M., Darban H. R., Darban J. R., Stazzone A. M., Watson R. R. Influence of the level of dietary ethanol in mice with murine AIDS on resistance to *Streptococcus pneumoniae* // Alcohol. - 1992.- Vol. 27. - N 3. - P. 345-352.
838. Shapiro H.M., Strom T.B. Electrophisiology of T lymphosyte cholinergic receptors// Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1980.-Vol. 77, N 1.-P. 4317-4321.

839. Sharma R.P., Ghering P.G. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on splenic lymphocyte transformation in mice after single and repeated exposures //Ann. N.Y. Acad. Sci.-1979.-Vol. 320, N 1.-P. 487-492.
840. Sharp D. Long-term effects of sarin // Lancet. – 2006.- Vol. 14, N 367 (9505). P.-95-97.
841. Shin T.M., Kan R.K., McDonough J.H. In vivo cholinesterase inhibitory specificity of organophosphorus nerve agents // Chem. Biol. Interact. – 2005.- Vol. 157-158.- P.-293-303.
842. Shonborn H., Prellwitz W., Baum P. Consumption coagulation pathology of 1,2-dichloroethane poisoning // Klin. Wochenschr. – 1970. – Vol. 48, N 3. – P. 822-824.
843. Shrikant P., Benveniste E. N. The central nervous system as an immunocompetent organ: Role of glial cells in antigen presentation //J. Immunol.- 1996.- Vol. 157, N 5. - P. 1819-1822.
844. Sibley D., Jerrells R. Alcohol consumption by C57BL/6 mice is associated with depletion of lymphoid cells from the gut-associated lymphoid tissues and altered resistance to oral infections with *Salmonella typhimurium* // J. Infect. Dis. – 2000. – Vol. 182, N 6. – P. 482–489.
845. Sikorski E.E., Burns L.A., Stern M.L. et al. Splenic cell targets in gallium arsenide-induced suppression of the primary antibody response //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1991a.-Vol. 110, N 1.-P. 129-142.
846. Sikorski E.E., Burns L.A., McCoy K.L. et al. Suppression of splenic accessory cell function in mice exposed to gallium arsenide //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1991б.-Vol. 110, N 1.-P. 143-156.
847. Silver E. H., Szabo S. Possible role of lipid peroxidation in the action of acrylonitrile on the adrenals, liver and gastrointestinal tract //Res. Comm. Chem. Pathol. pharmacol. - 1982.- Vol. 36, N 1. - P. 33-43.
848. Sinha A.A., Guados C., Loo Kwok-Choy, Diener E. Function of accesser cells in B cell responses to thymus-independant antigenes // J. Immunol.-1987.- .-Vol. 138, N 12.- P. 4143-4149.
849. Smialowicz R. J., Luebke R. W., Rogers R. R. et al. Manganese chloride enhances natural cell-mediated innune effector cell function: effects on macrophages //Immunopharmacology.-1985.-Vol. 9, N 1.-P. 1-11.
850. Smialowicz R. J., Rogers R. R., Riddle M. M. et al. Manganese chloride enhances murine cell-mediated citotoxicity: effects on natural killer cells //J. Immunopharmacol.-1984.-Vol. 6, N 1-2.-P. 1-23.
851. Smialowicz R. J., Rogers R. R., Riddle M. M. Stott G., A. Immunologic effects of nickel. I. Suppression of cellular and humoral immunity //Environ. Res.-1984.-Vol. 33, N 2.-P. 413-427.
852. Smialowicz R.J., Rogers R.R., Riddle M.M. et al. Immunologic effects of nickel. II. Suppression of natural killer activity //Environ. Res.-1985.-Vol. 36, N 1.-P. 56-66.
853. Snyder N.K., Kramer C.M., Dooley R.K., Holsapple M.P. Characterization of protein phosphorylation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in murine lymphocytes: Indirect evidence for a role in the suppression of humoral immunity. //Drug and Chem. Toxicol.-1993.-Vol. 16, N 2.-P. 135-163.
854. Solberg C. O. Phagocytic cell in host defence //Acta oto-laryngel.- 1984.- Vol. 98, N 407. - P. 5-13.
855. Sosa M., Sana A. Immunopharmacologic properties of inosine 5'- metthil monophosphate (MIMP) //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 458-463.
856. Spagnuolo P.J., McGregor R.R. Acute ethanol effect on chemotaxis and other

components of host defenses //J. Lab. Clin. Med.-1975.-Vol. 86, N 2.-P. 24-28.
857. Spencer H.C., Rowe V.K., Adams E.M. et al. Vapor toxicity of ethylene dichloride determined by experiments on laboratory animals // Arch. Ind. Hyg. occup. Med. – 1951. – Vol. 4, N 3. – P. 482-493.
858. Spreafico F., Vecchi A. Immunomodulation by xenobiotics: the open field of immunotoxicology /Immunomodul. Front. and Adv. Proc. Symp. Recent Adv. Immunomodul., Viareggio, 14-16 May, 1982.-New York; London, 1984.-P. 311-329.
859. Stasey N.H. Inhibition of natural killer cell function by ethanol //Austral. and N.Z.J. Med.-1985.-Vol. 15, N 1, Suppl. N 1.-P. 148.
860. Stelza K.J., Pazdernik T.L. Cadmium-induced immunotoxicity //Int. J. Immunopharmacol.-1983.-Vol. 5, N 6.-P. 541-548.
861. Stephen B. P., Ruping F., Qiang Z. et al. Modeling and predicting immunological effects of chemical stressors: characterization of a quantitative biomarker for immunological changes caused by atrazine and ethanol // Toxicol. Sci., 2003.- Vol. 75, N 10.-P. 343-354.
862. Stevens G. Immunomodulation drags: whece and whither//Immunomodulation drags / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 430-431.
863. Stiller-Winkler R., Zhang S., Idel H. et al. The immune system is a preferential target of HgCl2 in susceptible mouse strains //Immunobiology.-1988.-Vol. 178, N 1-2.-P. 248.
864. Stinger C.P., Pteinffer C., Gleichmann E. Contact sensitivity to mercury in mice /Eur. Immunol. Soc. 10th Meet. Edinburgh, 10-12 Sept., 1990: Abstr.-Edurburgh, 1990.-P. 169.
865. Street J.C., Sharma R.P. Alteration of induced cellular and humoral immune responses by pesticides and chemicals of environ-mental concern: quantitative studies of immunosuppression by DDT, aroclor 1254, cirbarul //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1975.-Vol. 32, N 3.-P. 587-602.
866. Strom T.B., Sytkowski A.T., Carpenter C.B., Merril J.P. Cholinergic augmentation of lymphosyte-mediated cytotoxicity. A study of the cholinergic receptor of cytotoxic T lymphocytes// Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1974.-Vol. 71, N 4.-P. 1330-1333.
867. Sullivan J. B. Immunological alterations and chemical exposure //J. Toxicol-Clin. Toxicol.-1989.-Vol. 27, N 6.-P. 311-343.
868. Sundheimer D.W., White R.D., Brendel K. The bioactivation of 1,2-dichloroethane in rat hepatocytes: covalent binding to nucleic acids // Carcinogenesis. – 1984. – Vol. 5, N4. – P. 805-808.
869. Sunil Kumar K.B., Ankathil R., Devi K.S. Chromosomal aberations induced by methyl parathion in human peripheral lymphocyts of alcoholics and smokers // Hum. and Exp. Toxicol.- 1993.-Vol. 12, N 4.-P. 285-287.
870. Sword C.P. Mechanisms of pathogenesis in Listeria monocytogenes infection /Influence of iron. //J. Bacteriol.-1966.-Vol. 92, N 3.-P. 536-542.
871. Szabo G., Mandrekar P., Dolganiuc A., Catalano D., Kodys K. Reduced alloreactive T-cell activation after alcohol intake is due to impaired monocyte accessory cell function and correlates with elevated IL-10, IL-13, and decreased IFN levels // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2001. - Vol. 25, N 3. - P. 1766–1772.
872. Szabo G., Verma B. K., Catalano D. Selective inhibition of antigenspecific T lymphocyte proliferation by acute ethanol exposure: the role of impaired monocyte antigen presentation capacity and mediator production // J. Leukoc. Biol. - 1993. - Vol. 54, N 4.-P. 534–544.
873. Szabo G., Verma B. K., Fogarasi M., Catalano D. Induction of transforming growth factor-beta and prostaglandin E2 production by ethanol in human monocytes // J. Leukoc. Biol. - 1992. - Vol. 52, N 3.-P. 602–610.
874. Szabo S., Huttner I., Kovacs K., Horvath E., Szabo D., Horner H. C. Pathogenesis of

experimental adrenal hemorrhagic necrosis ("appoplexy"). Ultrastructural, biochemical, neuropharmacologic and blood coagulation studies with acrylonitrile in the rats //Lab. Invest. - 1980.- N 42. - P. 533-545.
875. Szabo S., Selye H. Adrenal apoplexy and necrosis produced by acrylonitrile //Endocrinol. - 1971.- N 57. - P. 405-408.
876. Szabo S., Selye H. Effect of phenobarbital and steroid on the adrenal apoplexy produced by acrylonitrile in rats //Endocrinol. - 1972.- N 6. - P. 141-146.
877. Szelenyi J.G., Bartha E., Hollan S.R. Acetilcholinestrase activity of lymphosytes: an enzyme characteristic of T-cells // Brit. J. Haematol.- 1982.- Vol. 50, N 2. - P. 241-245.
878. Szot R.J., Murphy S.D. Phenobarbital and doxamethasone inhibition of the adrenocortical response of rats to toxic chemicals and other stresses //Toxicol. Applied Pharmacol.-1970.- Vol. 17, N 3.-P. 761-773.
879. Taurog J.D., Fewtrell C., Becker E.L. IgE mediated triggering of rat basophil leukemia cells: lack of evidence for serine esterase activation //J. Immunol.-1979.-Vol. 122, N 6.- P. 2150-2153.
880. Techima H., Sogawa H., Navagava T. Chenges in T-cell subpopulations induced by autonomic neurotrasmitters and hormone// Fufuoka acta med.-1991.-Vol. 82, N 7.-P. 428-436.
881. Tephly T.R. The biochemical toxicology of metanol //Toxicol. Lett. - 1983.- Vol. 18, N 7. - P. 34-36.
882. Tewark R.P., Balint I.P., Brown K.A. Suppressive effect of 3-methylcholanthrene on phagocytic activity of mouse peritoneal macrophages for Forulopsis glabrata //Journal of the Na-tional cancer inst.-1979.-Vol. 62, N 4.-P. 983-988.
883. Thomas I.K., Imamura T. Immunosuppressive effect of an impurity of malathion: inhibition of murine side effect of an impurity of malathion inhibition of murine T and B lymphocyte responses by O,O,S-trimethyl phosphorothioate //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1986.-Vol. 83, N 3.-P. 456-464.
884. Thomas I.K., Imamura T. Modulation of cellular and humoral immune responces by O,O,S-trimethyl phosphorodithioate,an impurity of commercial malathion //Toxicologist.- 1986.- Vol.6, N 1.-P. 169.
885. Thomas I.K., Koizumi A., Imamura T. Suppressive effect of O,O,-dimethyl,S-ethyl phosphorothioate on immune response //J. Toxicol. and Environ. Health.- 1986.- Vol. 19, N 4.- P. 465-476.
886. Thomas P. T., Ratajczak H. V., Aranvic C. et al. Evaluation of host resistance and immunefunction in cadmium exposed mice //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1985.-Vol. 80, N 3.-P. 446-456.
887. Thurmond L.M., Lauer L.D., House R.V. et al. Immunosuppression followind exposure to 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) in Ah-responsive and Ah-nonresponsive mice //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1987.-Vol. 91, N 3.-P. 450-460.
888. Tiefenbach B ., Wichner S. Dosisabhangigkeit und Mechanismus der acuten Wirkung von Methamidophos auf das Immunsystem der Maus //Z. gesamte Hyg. und Grenzdeb.- 1985.-Bd. 31, N 4.-S. 228-231.
889. Tiefenbach B., Hennighauzen G., Lange P. Zum Mechanismus der akuten Wirkungen phosphororganiscer Pestizide auf Las Immunosystem //Zbl. Pharm.-1983.-Bd. 122, H. 2.- S. 156.
890. Tiefenbach B., Lange P. Studies on the action of dimethoate on the immune system //Arch. Toxicol.-1980.- Suppl. 4.- P. 167-170.
891. Till J.E., Mc Culloch E.A.A direct measurement of the radiation sensitivity of mouse bone marrow cells //Radiat. Res. - 1961.- Vol. 14, N 2. - P. 213-222.
892. Tomar R.S., Kerkvliet N.I. Reduced T-helper cell function in mice exposed to 2,3,7,8-

tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) //Toxicol. Lett.-1991.-Vol. 57, N 1.-P. 55-64.
893. Tominaca K., Tominaca K., Kinoshita Y., Hato F. et al. Effects of cholinergic agonists on the protein synthesis in a cultured thymic epithelial cell line // Cell. and Mol. Diel.-1989.-Vol. 35, N 6.- P. 679-686.
894. Tone K., Suzuki T., Todoroki T., Matsui S. Influence of lead on the host's defence mechanisms. I. Influence of lead on antibody production //Kitasato Arch. Exp. Med.-1991.-Vol. 64, N 1.-P. 65-72.
895. Trichloroethylen // Environ. Health Criteria. Geneva Word Health Organization.-1985.- N 50. – 133 p.
896. Trinchievi G., de Marchi M. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in humans III. Effect of protease inhibitors and substrates //J. Immunol.-1976.-Vol. 116, N 4.-P. 885-891.
897. Tucher A. N., Bucher I. R., Geanoleo D. R., Silver M. T. Immunological studies on mice exposed subaculely – to methyl isocyanate //Environ. Health. perspect. - 1987.- No 72. - P. 139-141.
898. Tucker A.N., Vore S.J., Zuster M.I. Supression of B cell differentiation by 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin //Mol. Pharmacol.-1986.-Vol. 29, N 4.-P. 272-377.
899. Tunn U., Senge T.H., Otten E. Immunoglobuline und postoperative Wundinfec-tionen // Gelben H. -1977. -Vol. 7, N 4. -P. 177-181.
900. Van Loveren. H., Kraine E. I., Kraine-Franken M. A. M., Vos J.G. Immunotoxicity assessment in the rat: a tiered approach //Pharmacol. and Toxicol. Suppl.-1990.-Vol. 66, N 5.-P. 18.
901. Vecchi A., Mantovani A., Sironi M. et al. The effect of acute administration of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on humoral antibody production and cell-mediated activities in mice //Arch. Toxicol.-1980.-Vol. 4, P. 163-170.
902. Venugopal B., Luckey T.D. Metal toxicity in mammals.-New York: Plenum press.-1978.-Vol. 2.-409 p.
903. Verschoyle R.D., Dinsdale D. Protection against chemical-induced lung injury by inhibi-tion of pulmonary cytochrome P-450: [Pap.] Sump. Chem. and Lung Toxicity - Study Agent Disease, Cardiff, July 24-25, 1988 //Environ. Health Prspect.-1990.-N 85.-P. 95-100.
904. Vos J. G., Kraing E. I., Beekhot P. K., Van Logten M. J. Methods for testing immune effects of toxic chemicals: evaluation of the immunotoxicity of various pesticides in the rat. Pestic. Chem.: Hum. Welfare and Environ. // Proc. 5-th Int. Congr., Kyoto, Japan, 29 Aug. –4 Sept., 1982. –Vol. 3.- Oxford e.a. –1983.- P. 497-504.
905. Vos J.G., Klerk A., Krajnc E.I. et al. Immunotoxicity of TBTO. II. Suppression of lymphocyte transformation, activity of macrophages and natural killer cells // Pharm. Weekbl. Sci. Ed.- 1984.-Vol. 6, N 4.-P. 183.
906. Vos J.G., Kreeftenberg J.G., Endel H.W.B. et al. Studies on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced immune suppression and decreased resistanse to infection: endotoxin sensitivity, serum zinc concentrations and effects of thymosin treatment //Toxicology.-1978.-Vol. 9, N 1.-P. 75-86.
907. Vos J.G., Loveren H., Schuurman H.J. Immunotoxicity of dioxin: immune Function and hoct resistance in laboratory animals and humans //Biol. Basis Risk Assessm. Dioxins and Relat. Compounds.-Cold Spring Harbor (N.Y), 1991.-P. 79-93.
908. Vos J.G., Moore I.A., Zinke Y.G. Effect of on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin outheimmune system of laboratory animals //Environ Health Perspect.-1973.-Vol. 5, N 5.-P. 149-155.
909. Vredovoe D., Levy L., Knutson D. et al. Recovery of the murine mononuclear phagocytic system following chronic exposure to cadmium //Environ. Res.-1985.-Vol. 37,

N 2.-P. 373-382.
910. Wagner F., Fink R., Hart R., Lersch C., Dancygier H., Classen M. Ethanol inhibits interferon-gamma secretion by human peripheral lymphocytes // J. Stud. Alcohol. –1992. - Vol. 53, N 2. - P. 277–280.
911. Waltenbaugh C., Peterson J. D. Ethanol impairs the induction of delayed hypersensitivity in C57BL/6 mice // -1997.- Alcohol.- Vol. 14, N 4.- P. 149–153.
912. Wang R., Wand C., Fend Z., Luo Y. Investigation on the effect of selenium on T lymphocyte proliferation and ins mechanisms //Tongij yike daxue xuebao = J. Tongji Med. Univ.-1992.-Vol. 12, N 1.-P. 33-38.
913. Wang Y., Huang D.S., Giger P.T., Watson R.R. Influence of chronic dietary ethanol on cytokine production by murine splenocytes and thymocytes // Alcohol Clin. Exp. Res. - 1994. - Vol. 18, N 2.-P. 64–70.
914. Wang Y., Huang D.S., Giger P.T., Watson R.R.. Ethanolinduced modulation of cytokine production by splenocytes during murine retrovirus infection causing murine AIDS // Alcohol Clin. Exp. Res. – 1993. Vol. 17, N 2. – P. 1035–1039.
915. Wang Y., Watson R.R. Chronic ethanol consumption before retrovirus infection is a cofactor in the development of immune dysfunction during murine AIDS // Alcohol Clin. Exp. Res. - 1994. - Vol. 18, N 3.-P. 976–981.
916. Ward P.A. Goldschmidt T.P., Greene N.D. Suppressive effect of metal salts on leuhocyte and fibroblastis functions //I. Reticuloendoth. Soc.-1975.-Vol. 18, N 2.-P. 313-320.
917. Waters M.P., Gardner D.E., Coffiu D.L. Cytotoxic effect of vanadium on rabbit alveolar macrophages in vitro //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1974.-Vol. 28, N 2,-P. 253-263.
918. Weetman A. P., Gunn C., Hall R., McGregor A. Immynosuppression by perchlorate //Lancet.-1984.-N 8382.-P. 906.
919. Welch L.S., Cullen M.R. Effect of exposure to ethylene glycol ethers on shipyard painters.III. Hematologic effects //Amer. J. Ind. Med.-1988.-Vol. 14, N 5.-P. 527-536.
920. Whisler R. L., Stobo J.D. Heterogenecity of murine regulatory T cells // J. Exp. Med.-1976.-Vol. 144, N 2.-P. 398-413.
921. Willem S., Rund A., Ellen E., Cees de H., Raymond P. Sensitization of the immune system. A. challenge for in vitro toxicology: Abstr. 2nd World Congr. Alternat. and Anim. Use Life Sci, Utrecht, 20-24 Oct. 1996 //ATLA. - 1996.- 24, Spec. Issece.- P. 126.
922. Willhite C. C. Developmental toxicology of acetonitrili in the Syrian golden hamster //Teratology. - 1983.- Vol. 27. - No 3. - P. 313-325.
923. Willhite C. C., Smith R. P. The role cyanide liberation in the acute toxicity of aliphatic nitriles //Toxicol. appl. Pharmacol. - 1981.- No 59. - P. 701-703.
924. Wilson S., Mireille D. Immune – neuroendocrine interactions //Immunol. Today. - 1995. - Vol. 16. - No 7. - P. 318-322.
925. Wiltrout R. W., Ercegovich C. D., Ceglowski W. S. Humoral immunity in mice following oral administration of selected pesticides //Bull. Enviroum. Contam. Toxicol.-1978.-Vol. 20, N 3.-P. 423-431.
926. Wojdani A. and Alfred Z.G. Atterations in cell-mediated immune functions induced in mouse splenic Lymphocytes by Polycyclic Aromatic hydrocarbons //Cancer Research.-1984.-Vol. 44, N 3.-P. 942-945.
927. Wood G.W., Volenic F.J., Mani M.M., Humphrey L.J. Dynamics of T-lympho-cyte subpopulations and T-lymphocyte functions following thermal injury //Clin. Exp. Immunol. -1978. -Vol. 31, N 2. -P. 291-297.
928. Woodin A.M., Harris A. The inhibition of locomotion of the polymorphonuclear leukocyte by organophosporus compounds //Exp. cell Research.-1973.-Vol. 77, N 1-2.-P.

41-46.
929. Woodin A.M., Wieneke A.A. The action of phosphonates on the leukocyte in relation to the mode of action of leucocidin. The properties of the potassium pump and the inhibition of chemotaxis //Brit. J. Exp. Path.-1969.-Vol. 50, N 3.-P. 295.-308.
930. Yllner S. Menabolism of 1,2 –Dichloroethane poisoning // Acta. Pharmacol. Toxicol.-1977.- Vol. 26, N 3.-P. 281-284.
931. Yllner S. Metabolism of 1,2-dichloroethane – ^{41}C in the mouse // Acta. Pharmacol. Toxicol. – 1977. – Vol. 30, N 3. – P. 257-265.
932. Yoshiyuki M., Kunihiko M., Shigeki I. et al. Antibodiforming function of mice by introperitoneal injection of beryllium chloride //J. Sci. Labour.-1984.-Vol. 60, N 11.-P. 507-513.
933. Zaporowska H., Wasilewski W. Haematological results of vanadium intoxication in Wistar rats // Compar. Biochem. and Physiol. C.-1992.-Vol. 101, N 1.-P. 57-61.
934. Zhang P., Bagby G. J., Boe D. M., Zhong Q., Schwarzenberger P., K. Kolls J., Summer W. R., Nelson S. Acute alcohol intoxication suppresses the CXC chemokine response during endotoxemia // Alcohol. Clin. Exp. Res..- 2002. - Vol. 26, N 6.- P. 65-73.
935. Zhang Q., X.D. Zhou, T. Denny., Ottenweller J.E. Changes in Immune Parameters Seen in Gulf War Veterans but Not in Civilians with Chronic Fatigue Syndrome // Clinical and diagnostic laboratory immunology. – 1999. – Vol. 6. – P. 6–13.

Научное издание

Павел Францевич Забродский
Владимир Григорьевич Мандыч

ИММУНОТОКСИКОЛОГИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

Монография

Редактор: В.В. Макаров

Подписано в печать 29.12.2007 г.
Формат 60х84 1/16. Усл. печ. л. 26,2
Уч.-изд. л. 27,2. Тираж 500 экз. Зак. № 433

Типография СВИБХБ